Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

175. BAND, 3. HEFT

MIT 17 ABBILDUNGEN IM TEXT

ABGESCHLOSSEN AM 27. JUNI 1960

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN
1960

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J.F. Bergmann, Band 63—127 (1944) München, J.F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann, und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommensdie Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0,30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 175 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Gregorowicz, Z., Bemerkungen zur colorimetrischen Bestimmung von Vanadium mit Phosphorwolframsäure. Mit 5 Textabbildungen 161

Kainz, G., und H. Horwatitsch, Zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge bei der Elementaranalyse. 1. Mitteilung. Die Wirksamkeit der Oxydationsschicht bei der Preglschen C-H- und N-Bestimmung. Mit 4 Textabbildungen 166

Gebauhr, W., und A. Spang, Die Bestimmung geringer Selengehalte in Kupfer als Piazselenol nach Abtrennung auf trockenem Wege. Mit 3 Textabbildungen . . . 175

Sastry, T. P., and Samuel A. Pratt III, A Screened Indicator of Methyl Orange with Sulfonated Copper Phthalocyanine 182

Csányi, L. J., and F. Szöke, Oxalate Interference in Cerimetry. With 1 Figure in the Text 187

Rao, G. Gopala, Note (Interferences in Cerimetric Titrations) 195

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für Anorganische Chemie der Schlesischen Technischen Hochschule Gliwice und der Analytischen Anstalt der Pädagogischen Hochschule Katowice, Polen

Bemerkungen zur colorimetrischen Bestimmung von Vanadium mit Phosphorwolframsäure

Von

ZBIGNIEW GREGOROWICZ

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Februar 1960)

Die Reaktion von Vanadat mit Phosphorwolframsäure wird sehr oft bei colorimetrischen Vanadiumbestimmungen benutzt, z. B. bei Vanadiumbestimmungen in Stählen[2,7,8], Aluminium[1], Erdölaschen[5] und in mineralischen Rückständen der Erdölprodukte[4]. Die selektive und befriedigend empfindliche Methode stützt sich auf die Bildung der gelb gefärbten Phosphorwolframvanadiumsäure. Die photometrischen Messungen führt man im Bereich kurzer Wellen des sichtbaren Spektrums aus[9]. HOPPS u. BERK[5] benutzen verschiedene Lichtfilter in Abhängigkeit von der Menge des zu bestimmenden Vanadiums.

WRIGHT u. MELLON[9] geben als optimale Konzentrationen 0,5 m Phosphorsäure und 0,025 m Natriumwolframat in den untersuchten Lösungen an. Sie betonen überdies, daß Phosphorsäure und Natriumwolframat in den molaren Mengenverhältnissen 3 : 1 bis 20 : 1 vorhanden sein müssen. SANDELL[6] erwähnt, daß ein größerer Gehalt der Phosphorsäure bei Bestimmungen von Vanadium in Gegenwart von mehr als 25 mg Eisen(III) in 25 ml Lösung stört.

Um diese Angaben zu überprüfen, insbesondere um festzustellen, inwieweit ein Überschuß an Phosphorsäure bei der Vanadiumbestimmung in Gegenwart von Eisen(III)-ionen schädlich ist, stellte ich eine Reihe von Versuchen an, über deren Ergebnisse im folgenden berichtet werden soll.

Versuchsteil

Geräte und Reagentien. Die Lichtdurchlässigkeitsmessungen wurden mit dem Spektrophotometer von Beckman, Modell DU, sowie mit dem visuellen Pulfrich-Photometer der Firma Carl Zeiss, Jena, mit kompletten S-Filtern, ausgeführt. Die verwendeten Küvetten, Typus C, hatten einen Lichtweg von 4,997 cm Länge.

Die Ammoniumvanadat-Stammlösung enthielt 50 μg V/ml; wäßrige Natriumwolframatlösungen kamen in den Konzentrationen 0,062 m, 0,125 m, 0,25 m und 0,5 m zur Anwendung.

Farbreaktion

In 50 ml-Bechergläsern versetzte ich die Vanadiumstammlösung mit 2 ml konz. Salpetersäure, 1 ml Phosphorsäure (D 1,72) und 2 ml 0,25 m Natriumwolframatlösung, verdünnte mit Wasser auf 15—20 ml und kochte ungefähr 2 min. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung in 25 ml-Meßkölbchen übertragen und mit dest. Wasser aufgefüllt.

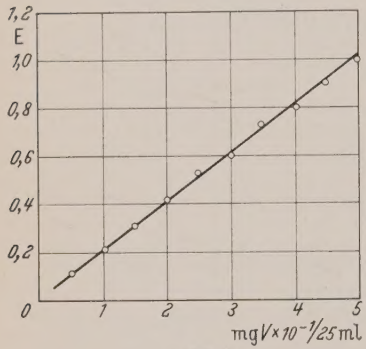

Abb. 1

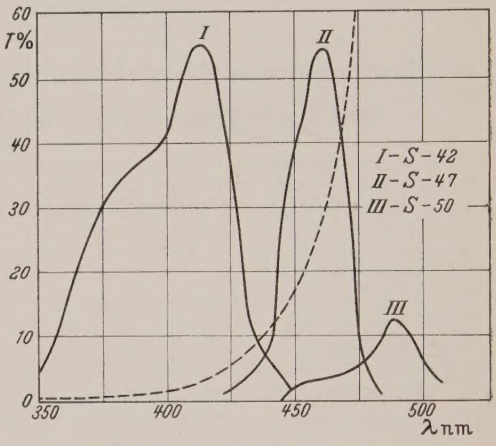

Abb. 2

Abb. 1. Abhängigkeit der Extinktionswerte von der Vanadiumkonzentration (Durchschnittswerte aus mehreren Messungen bei Anwendung des Filters S 47)

Abb. 2. Durchlässigkeitskurve des Vanadiumkomplexes mit Phosphorwolframsäure (gestrichelte Linie) und Durchlässigkeitskurven der Filter (ausgezogene Linien)

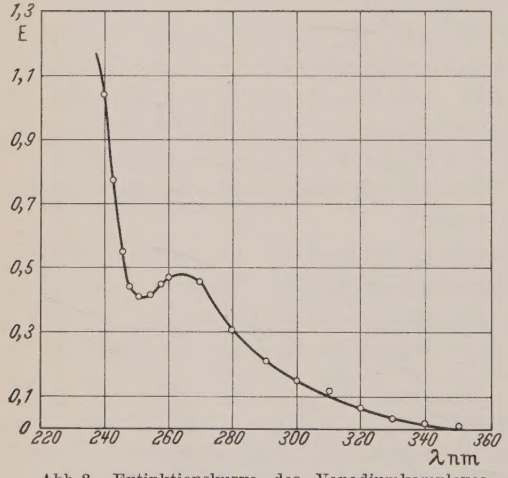

Abb. 3. Extinktionskurve des Vanadiumkomplexes mit Phosphorwolframsäure; die Messungen wurden in Quarz-Küvetten von 0,1 cm Länge durchgeführt (25 μg V/25 ml)

Mit dieser Methodik wurden im visuellen Pulfrich-Photometer 2—20 μg Vanadium in 1 ml Lösung bestimmt. Wie man aus Abb. 1 erkennt, ist das Beersche Gesetz erfüllt.

In Abb. 2 sind die Lichtdurchlässigkeitskurve der Phosphorwolframvanadiumsäure (gestrichelte Kurve) und die Lichtdurchlässigkeitskurven der S-Filter des Pulfrich-Photometers[3] (ausgezogene Kurven) dargestellt. Aus der Abbildung geht hervor, daß sich zur Extinktionsmessung farbiger Phosphorwolframvanadiumsäurelösungen das Filter S 47 am besten eignet.

Es wurde auch der Verlauf der Extinktionskurve des Komplexes im ultravioletten Spektralbereich geprüft, wobei ein Absorptionsmaximum bei etwa 265 nm festgestellt wurde (Abb. 3).

Einfluß der Mengen Phosphorsäure und Wolframat auf den Extinktionswert

In eine Reihe von 50 ml-Meßkölbchen wurden die Vanadiumstammlösung und 2 ml konz. Salpetersäure eingefüllt. Dann wurde die Farbreaktion mit wechselnden Mengen Phosphorsäure und Natriumwolframat hervorgerufen.

Tabelle 1. *Einfluß der Menge konz. Phosphorsäure auf den Extinktionswert*

H_3PO_4 ml	Extinktion *E*			H_3PO_4 ml	Extinktion *E*		
	2 µg V/ml	10 µg V/ml	20 µg V/ml		2 µg V/ml	10 µg V/ml	20 µg V/ml
0,5	0,11	0,52	0,98	4	0,10	0,52	0,98
1	0,10	0,51	0,99	5	0,11	0,51	0,99
2	0,11	0,52	1,00	6	0,11	0,52	0,99
3	0,12	0,53	1,00				

Die Versuche der Tab. 1 sind mit je 2 ml 0,25 m Na_2WO_4-Lösung und 0,5—6 ml Phosphorsäure (D 1,72) ausgeführt. Wie man sieht, hat die Änderung der Phosphorsäurekonzentration in diesen Grenzen keinerlei Einfluß auf die Extinktionswerte der überprüften Vanadiumkonzentrationen (2—20 µg V/ml).

Bei den Versuchen der Tab. 2 wurden bei gleichbleibender Phosphorsäurekonzentration [1 ml der Säure (D 1,72) je Versuch] die Wolframatkonzentrationen geändert, indem man je 2 ml 0,062 m bis 0,5 m Na_2WO_4-Lösung anwandte. Auch hier ist im allgemeinen keine Beeinflussung der Extinktionswerte festzustellen. Nur bei den höchsten Vanadiummengen reichen die 2 ml der verdünntesten (0,062 m oder 0,125 m) Wolframatlösungen nicht mehr aus. In weiteren Versuchen, die in der Tabelle nicht wiedergegeben sind, wandte ich statt 2 ml bis zu 6 ml Na_2WO_4-Lösung der verschiedenen Konzentrationen (0,125 m bis 0,5 m) an. Auch hier zeigte sich bei der Bestimmung von 2 oder 4 µg V/ml kein Einfluß auf die Extinktionswerte.

Tabelle 2. *Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Konzentration an Natriumwolframat*

[V] µg/ml	Extinktion *E* bei Zugabe von 2 ml Na_2WO_4-Lösung von den Molaritäten			
	0,5 m	0,25 m	0,125 m	0,062 m
2	0,11	0,12	0,11	0,11
6	0,31	0,30	0,31	0,31
10	0,53	0,52	0,53	0,52
14	0,72	0,71	0,72	0,71
20	0,99	1,00	0,95	0,92

Im ganzen ist also festzustellen, daß man bei der Vanadiumbestimmung die Konzentrationen der Phosphorsäure und des Wolframats in recht weiten Grenzen ändern kann, ohne einen ungünstigen Einfluß auf die Analysengenauigkeit befürchten zu müssen.

Einfluß der Menge konz. Salpetersäure auf den Extinktionswert

Die auf Vanadium zu prüfenden Materialien werden meist in Säuren gelöst. Deshalb war es von Interesse, den Einfluß verschiedener Mengen konz. Salpetersäure bei der Bestimmung bekannter Vanadiumgehalte zu untersuchen.

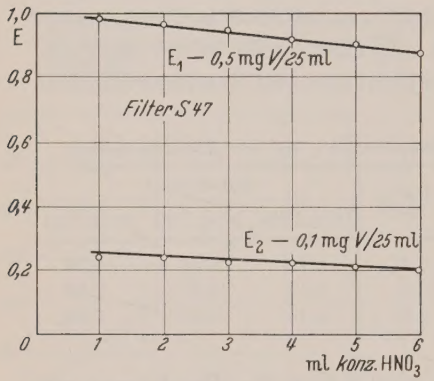

Abb. 4. Einfluß der Mengen an konz. Salpetersäure auf den Extinktionswert

Die Versuche wurden nach der S. 162 gegebenen Vorschrift durchgeführt, nur die zugegebenen Salpetersäuremengen wurden geändert.

Wie man aus Abb. 4 entnimmt, ergibt sich bei Steigerung des Salpetersäurezusatzes eine lineare Herabsetzung des Extinktionswertes. Die Fehler, welche hierdurch entstehen, sind aus Tab. 3 zu ersehen.

Tabelle 3. *Abhängigkeit des Fehlers der Vanadiumbestimmung von der angewandten Menge konz. Salpetersäure*

Konz. Salpetersäure ml	[V] µg gegeben	[V] µg gefunden	Fehler %	Konz. Salpetersäure ml	[V] µg gegeben	[V] µg gefunden	Fehler %
4	500	483	– 3,4	6	500	448	– 10,4
5	500	464	– 7,2	10	500	402	– 19,6

Einfluß des EisenI(II)-ionenüberschusses auf die Vanadiumbestimmungen

Es wurden spektrophotometrische Messungen vorgenommen im Bereich der Lichtwellenlängen $\lambda = 420-520$ nm bei Bestimmungen des Vanadiums in Gegenwart der 50fachen Menge an Eisen(III)-ionen. Abb. 5 zeigt, daß diese Eisenmengen keinen Einfluß auf den Extinktionswert der Lösungen haben.

Es wurden auch bekannte Vanadiummengen neben sehr großen (bis zu 1500fachen) Eisen(III)-ionenüberschüssen bestimmt, um zu prüfen, ob die angewandte Phosphorsäurekonzentration die Analysenergebnisse stört.

In 50 ml-Bechergläser wurden die Vanadiumstammlösung, bekannte Mengen von Eisen(III)-salzlösungen, 2 ml konz. Salpetersäure, 1 ml Phosphorsäure (D 1,72) sowie 2 ml 0,25 m Natriumwolframatlösung eingefüllt. Nach der Farbentwicklung und dem Aufkochen wurden die Lösungen in 25 ml-Maßkölbchen übergeführt und mit dest. Wasser zur Marke aufgefüllt.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengestellt. Man erkennt, daß Vanadium auch neben einem großen Überschuß an Eisen(III)-ionen ohne störenden Einfluß der Phosphorsäure bestimmt werden kann.

Tabelle 4. *Abhängigkeit des Extinktionswertes vom Eisen(III)-ionenüberschuß*

Nr.	1	2	3
[Fe] mg/25 ml	150	25	100
[V] mg/25 ml	0,10	0,25	0,50
[Fe] : [V]	1500	100	200
$E_{Fe,V}$	0,22	0,53	1,01
E_V	0,21	0,53	1,00

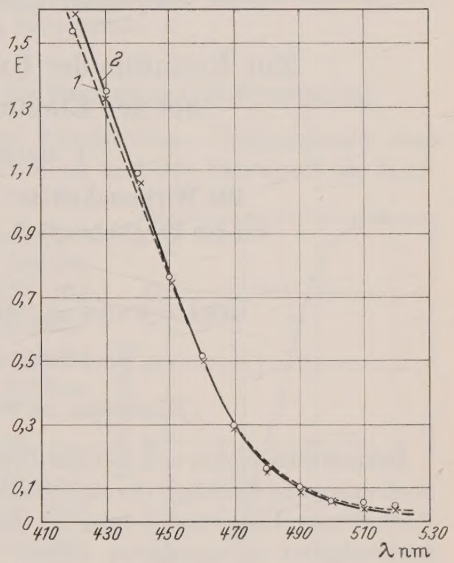

Abb. 5. Extinktionskurven des Vanadiumkomplexes mit Phosphorwolframsäure (Kurve *1*) in Gegenwart eines 50fachen Eisen(III)-ionenüberschusses (Kurve *2*)

Zusammenfassung

Die colorimetrische Bestimmungsmethode von Vanadium mit Phosphorwolframsäure wurde in bezug auf den Einfluß der Reagenskonzentrationen untersucht. Außerdem wurde die Bestimmungsmöglichkeit in Gegenwart von Eisen geprüft. Es zeigte sich, daß die Konzentrationen an Phosphorsäure und Wolframat in weiten Grenzen geändert werden können, ohne die Bestimmungsgenauigkeit zu beeinflussen. Zu große Mengen Salpetersäure bewirken negative Fehler, indem die Extinktionen mit zunehmender HNO_3-Konzentration linear abnehmen. Nach der angegebenen Vorschrift kann Vanadium in Gegenwart von bis zu 150 mg Eisen(III)-ionen in einem Volumen von 25 ml bestimmt werden.

Literatur

[1] Černichov, Ju. A., u. B. M. Dobkina: Zavodskaja Laborat. **16**, 402 (1950). — [2] Cooper, M. D., u. P. K. Winter: Analyt. Chemistry **21**, 605 (1949); vgl. diese Z. **134**, 68 (1951/52). — [3] Gorczyńska, K., D. Ciecierska u. H. Walędziak: Chem. analit. (Warszawa) **2**, 22 (1957); vgl. diese Z. **169**, 229 (1959). — [4] Gregorowicz, Z.: Nafta (Kraków) **13**, 39 (1957). — [5] Hopps, G. L., u. A. A. Berk: Analyt. Chemistry **24**, 1050 (1952); vgl. diese Z. **139**, 65 (1953). — [6] Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals. New York, London 1959. — [7] Tichonova, A. A.: Zavodskaja Laborat. **16**, 1168 (1950); vgl. diese Z. **140**, 220 (1953). — [8] Tkačenko, N. S., u. R. M. Petrunina: Zavodskaja Laborat. **16**, 357 (1950); vgl. diese Z. **136**, 318 (1952). — [9] Wright, E. R., u. M. G. Mellon: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **9**, 251 (1937).

Dr. Ing. Zbigniew Gregorowicz, Gliwice, Piramowicza 8 (Polen)

Aus dem Analytischen Institut der Universität Wien

Zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge bei der Elementaranalyse

1. Mitteilung

Die Wirksamkeit der Oxydationsschicht bei der Preglschen C-H- und N-Bestimmung

Von
Gerald Kainz und Heinz Horwatitsch

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Februar 1960)

Bekanntlich bilden sich bei der Crackung der Analysenprobe im Verbrennungsrohr flüchtige Crackprodukte und teilweise auch kohlenartige Rückstände. Bisher nahm man an, daß die kohleartigen Rückstände am schwierigsten zu oxydieren wären. Unsere letzten Untersuchungen[4] zeigten aber, daß die quantitative Oxydation der flüchtigen Crackprodukte mindestens ebenso schwierig ist, da man den Fortgang der Oxydation nicht unmittelbar sehen kann.

Von den flüchtigen Crackprodukten erwies sich besonders Methan als äußerst resistent. Dieses Gas konnten wir stets am Ende des Verbrennungsrohres (mit Hilfe der Gaschromatographie) nachweisen, wenn z. B. Sterine oder Paraffine unvollständig verbrannt wurden.

Diese Beobachtung veranlaßte uns nun zu untersuchen, inwieweit die flüchtigen Crackprodukte bei der Preglschen C-H- und N-Bestimmung quantitativ oxydiert werden. Die Untersuchung schien um so mehr gerechtfertigt, als bekanntlich die Ansichten über die erforderliche Temperatur der Oxydationsschicht, in der die flüchtigen Crackprodukte oxydiert werden, sehr differieren.

Pregl fand eine Temperatur von 700° C als ausreichend. Diese Temperatur wurde auch deshalb gewählt, weil das Verbrennungsrohr aus Supremaxglas nur bis 700° C beständig ist. Andere Autoren wiederum bezeichnen 700° C als unzureichend und fordern 800—1000° C. Hierzu ist ein Verbrennungsrohr aus Quarzglas notwendig, das wesentlich teurer ist.

Um zwischen diesen unterschiedlichen Ansichten eine klare Entscheidung zu treffen, haben wir durch die Rohrfüllung *bei verschiedenen Temperaturen Methan hindurchgeleitet* und die Menge des verbrannten Anteils bestimmt. Auf diese Weise konnten wir nicht nur die Mindesttemperaturen ermitteln, die für die C-H- und N-Bestimmung nach Pregl

notwendig sind, sondern auch interessante Einblicke in die erforderlichen Oxydationsbedingungen gewinnen.

Als erstes werden die Untersuchungen bei der C-H-Bestimmung und als zweites die der N-Bestimmung besprochen.

1. Oxydationsverhältnisse bei der Pregischen C-H-Bestimmung

Abb. 1 zeigt, wieviel Methan bei verschiedenen Temperaturen über Kupferoxyd-Bleichromat als Rohrfüllung und mit Sauerstoff als Spülgas verbrennt. Demnach ist die Verbrennung von Methan außerordentlich temperaturabhängig. Den stärksten Anstieg finden wir zwischen 500 und 600° C, wo die Verbrennungsquote durch eine Temperaturerhöhung von 10° C um 7% erhöht wird. Bei 680° C schließlich wird Methan quantitativ oxydiert.

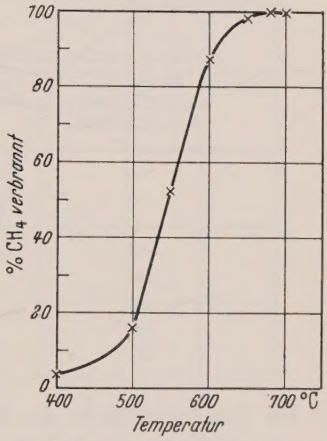

Abb. 1. Verbrennung von Methan über CuO-$PbCrO_4$ mit Sauerstoff (4 ml/min) als Spülgas

Dieser Befund bedeutet, daß die von Pregl angegebene Verbrennungstemperatur von 700° C ausreichend ist, um eine quantitative Oxydation der flüchtigen Crackprodukte, insbesondere Methan, zu erzielen. Bemerkenswert ist, daß Kupferoxyd, das nicht mit Bleichromat imprägniert ist, dasselbe Diagramm liefert.

In diesem Zusammenhange sei erwähnt, daß die im Handel befindlichen Kupferoxydpräparate etwas unterschiedlich sind. Das beste von uns untersuchte Präparat ergab eine Mindesttemperatur von 640—650° C; die meisten Präparate lagen allerdings um 680° C.

Wenn nun verschiedene Forscher eine wesentlich höhere Temperatur als 700° C als notwendig erachten, so liegt dies, wie wir gefunden haben, an den unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten. Bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten ist nämlich die in Abb. 1 dargestellte Kurve nach höheren Temperaturen hin verschoben. Über das Ausmaß der Verschiebung gibt Tab. 1 Auskunft.

Wir ersehen daraus, daß bei Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit der Prozentsatz an verbranntem Methan sofort empfindlich abnimmt. Bei 700° C darf die Strömungsgeschwindigkeit maximal 5 ml/min betragen. Darüber hinaus erfolgt bereits eine unvollständige Verbrennung.

Mancher Leser wird nun einwenden, daß er trotz einer Strömungsgeschwindigkeit von 4 ml/min bei gewissen Verbindungen zu tiefe Resultate erhielt. Wir haben auch diesen möglichen Einwand geprüft und sind zu dem Ergebnis gekommen, daß man bei der C-H-Analyse

zwei Strömungsgeschwindigkeiten unterscheiden muß: a) die Strömungsgeschwindigkeit *vor der Verbrennungszone* und b) die Strömungsgeschwindigkeit *in der Verbrennungszone*.

Für das Ausmaß der Verbrennung ist die Geschwindigkeit *in* der Verbrennungszone entscheidend. Diese Strömungsgeschwindigkeit setzt sich additiv zusammen a) aus der Menge des Spülgases, das je Zeiteinheit in die Verbrennungszone eintritt und b) aus der Menge der Verbrennungsprodukte (Kohlendioxyd, Wasser, Stickstoff), die je Zeiteinheit bei der Oxydation der organischen Substanz entstehen.

Tabelle 1

Strömungsgeschwindigkeit in Milliliter/Minute	Verbrennungsquote von Methan (in Prozent) bei 680° C	Mindesttemperatur (in Grad Celsius) für quantitative Oxydation
4	100	680
5	99,5	700
6	98	715
8	95	735
10	92	750
12	87	760
14	83	770
20	71	790

Die Geschwindigkeit des Spülgases (Sauerstoff) in der Verbrennungszone sinkt während der Verbrennung in dem Maße ab, als Sauerstoff zur Oxydation verbraucht wird.

Die Menge der je Zeiteinheit entstehenden Verbrennungsprodukte ist variabel und hängt vom Tempo der Vergasung ab. Bei Mikroeinwaagen entstehen insgesamt etwa 10—12 ml gasförmige Produkte (bezogen auf 20° C). Wird nun die Probe schnell vergast, z. B. binnen 1 min, so steigt die Strömungsgeschwindigkeit in der Verbrennungszone von 4 ml Gas/min — das ist die Geschwindigkeit des Spülgases — auf 14—16 ml Gas/min (bezogen auf 20° C). Für eine derartige Strömungsgeschwindigkeit ist laut Tab. 1 eine Mindesttemperatur von 770—780° C notwendig. Das Tempo der Vergasung ist somit entscheidend für die erforderliche Mindesttemperatur der Rohrfüllung.

Wovon hängt nun das *Tempo der Vergasung* ab? Hierzu haben wir die heute üblichen Methoden zur Vergasung näher betrachtet. Es sind dies: a) die individuelle Verbrennung nach PREGL, die kürzlich von uns[2] auch automatisiert wurde und b) die automatische Verbrennung mit gleichmäßigem Vorschub des Wanderbrenners (vgl. z. B.[1]).

Bei der *Preglschen Methode* wird die Vergasung mit Hilfe eines Wanderbrenners erreicht, der allmählich gegen den Langbrenner hin verschoben wird. Der Vorschub des Wanderbrenners wird nach dem

Druck im Verbrennungsrohr geregelt. Steigt der Druck an, so wird der Wanderbrenner gestoppt, bis der Druckanstieg abgeklungen ist. Die Vergasung der Probe verläuft dadurch relativ gleichmäßig und langsam; die Strömungsgeschwindigkeit in der Verbrennungszone wird nicht sonderlich erhöht. Die Fortbewegung des Wanderbrenners ist allerdings unregelmäßig und von Substanz zu Substanz verschieden (vgl. KAINZ[2], Abb. 3a).

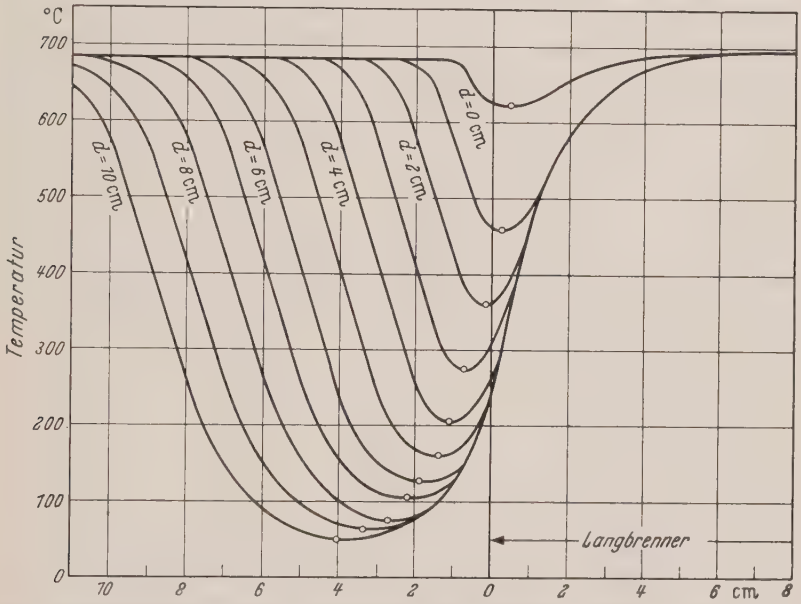

Abb. 2. Temperaturverlauf zwischen Wanderbrenner und Langbrenner. Distanz des Wanderbrenners variiert von $d = 10$ cm bis $d = 0$ cm

Bei der *Verbrennungstechnik mit gleichmäßigem Brennervorschub* hingegen bewegt sich der Wanderbrenner unabhängig von den Druckänderungen im Rohr gleichmäßig gegen den Langbrenner zu. Das Tempo der Vergasung wird hier durch den Temperaturverlauf zwischen Lang- und Wanderbrenner bestimmt.

Wir haben nun den Temperaturverlauf für verschiedene Stellungen des Wanderbrenners ermittelt (Abb. 2). Man sieht, daß sich zwischen beiden Brennern jeweils ein Temperaturminimum einstellt, dessen Höhe von der Stellung des Wanderbrenners abhängt. In diesem Minimum sammelt sich der Hauptteil der Probe, sofern sie destilliert, in Form eines Tropfens an. Dort erfolgt auch die Vergasung.

Trägt man das jeweilige Temperaturminimum gegen die Zeit auf, in der es erreicht wird, so erhält man den *Temperaturverlauf bei der Vergasung der Probe*. Abb. 3a zeigt nun, daß sich die Temperatur der

Probe — bei gleichmäßigem Brennervorschub — *exponentiell* ändert. Da der Dampfdruck der Probe ebenfalls exponentiell mit der Temperatur ansteigt, so tritt in diesem Falle statt einer gleichmäßigen Vergasung eine *stark progressive Vergasung* ein. Die weitere Folge ist ein sprunghafter Anstieg der Strömungsgeschwindigkeit in der Verbrennungszone.

Einen ähnlichen Temperaturverlauf wie in Abb. 3a haben wir auch bei nichtflüchtigen Substanzen beobachtet, die sich bereits im Schiffchen zersetzen.

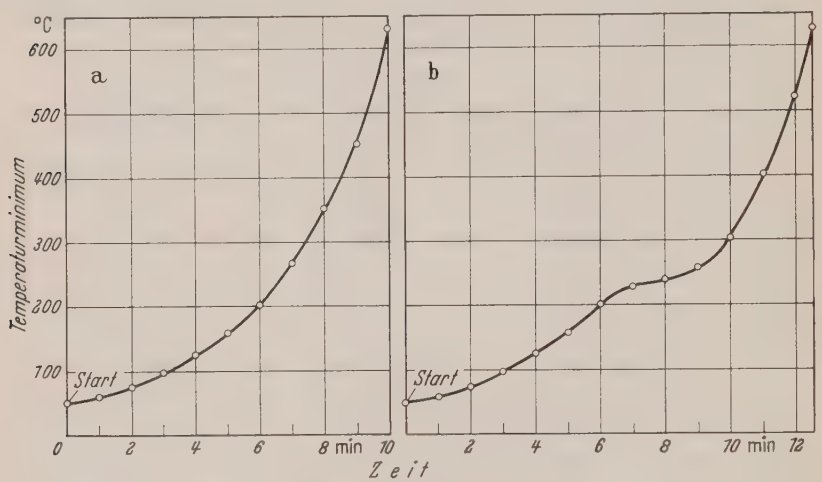

Abb. 3. Änderung des jeweiligen Temperaturminimums (zwischen Lang- und Wanderbrenner) beim Vorrücken des Wanderbrenners; a bei Automatik mit gleichmäßigem Vorschub (10 mm/min); b bei individueller Verbrennung nach PREGL (Beispiel: Benzoesäure)

Hingegen ergab die Aufnahme des Temperaturverlaufs bei der Preglschen Technik folgendes Bild (Abb. 3b): Auch hier ist zunächst ein Temperaturanstieg zu verzeichnen. Für eine gewisse Zeit bleibt aber dann die Temperatur annähernd konstant. In diesem Bereich wird der Wanderbrenner durch den Druckanstieg gestoppt. Die Substanz verdampft nun allmählich weg. Sobald die Verdampfung beendet ist, wandert der Brenner wieder vorwärts und die Temperatur steigt wie in Abb. 3a an.

Wir ersehen aus diesen Versuchen, daß die Verbrennungsweise entscheidend ist, ob man mit der von PREGL angegebenen Temperatur von 700° C das Auslangen findet oder nicht. Bei der Automatik mit gleichmäßigem Brennervorschub ist zufolge der hohen Spitzengeschwindigkeit in der Verbrennungszone eine Temperatur von etwa 780° C empfehlenswert. Dies steht im Einklang mit den Befunden von ZIMMERMANN[7], der auf rein empirischer Grundlage für Apparaturen mit gleichmäßigem Brennervorschub 800° C gewählt hat.

2. Oxydationsverhältnisse bei der Pregl'schen N-Bestimmung

Um die Oxydationsverhältnisse bei der N-Bestimmung kennenzulernen, haben wir die Temperaturabhängigkeit der Reaktion von Methan mit grobem Kupferoxyd in Kohlendioxydatmosphäre aufgenommen. Abb. 4 zeigt, daß die Oxydationskurve praktisch dieselbe Form hat wie in Sauerstoffatmosphäre (Abb. 1), daß sie jedoch um 90° C zu höheren Temperaturen hin verschoben ist. Die Mindesttemperatur für die quantitative Oxydation von Methan beträgt bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 4 ml/min 770° C. Die Oxydationsverhältnisse bei der N-Bestimmung werden daher mit Recht als ungünstiger als bei der C-H-Bestimmung bezeichnet.

Tabelle 2

Strömungsgeschwindigkeit in Milliliter/Minute	Restgas bei 680° C	Mindesttemperatur für quantitative Oxydation
1	0,4	700
2	7	740
4	22	770
6	36	795
8	47	808
10	54	818
12	60	823
14	65	828
20	74	862

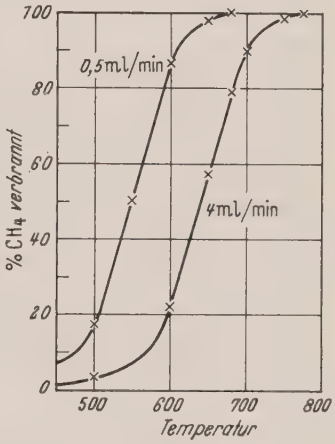

Abb. 4. Verbrennung von Methan über CuO mit Kohlendioxyd als Spülgas (4 ml/min und 0,5 ml/min)

Um die gasförmigen Crackprodukte quantitativ oxydieren zu können, hat Pregl eine Maximalgeschwindigkeit von einer Blase in 2 sec (in späteren Auflagen 2 Blasen in 3 sec) angegeben. Dies entspricht etwa einer Strömungsgeschwindigkeit von 0,44 bzw. 0,60 ml/min. In Abb. 4 haben wir auch die Verbrennungskurve bei einer Geschwindigkeit von 0,5 ml eingezeichnet. Wie man sieht, reicht hier zur quantitativen Oxydation eine Temperatur von 680° C aus.

Um die Verhältnisse bei Überschreitung der von Pregl empfohlenen Maximalgeschwindigkeit kennenzulernen, haben wir die Menge Methan bestimmt, die bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten unzersetzt das Rohr verläßt und sodann als „Stickstoff" im Azotometer erscheint.

Aus Tab. 2 ersieht man, daß die Strömungsgeschwindigkeit maximal 1 ml/min betragen darf. Dies bedeutet, daß bei 700° C nur die individuelle Verbrennungsweise nach Pregl zum Erfolg führt.

Verbrennt man hingegen nicht nach Pregl, sondern läßt den Brenner durch eine Automatik gleichmäßig vorschieben, so muß man, wie vorhin ausgeführt, mit höheren Spitzengeschwindigkeiten in der Verbrennungszone

rechnen. Nach Tab. 2 scheint dann eine Ofentemperatur von 830° C adäquat. Dies steht im Einklang mit unserem früheren Befund[4], wo wir auf empirischer Grundlage 850° C als Arbeitstemperatur für eine Apparatur mit gleichmäßigem Brennervorschub angegeben haben.

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß wir[3] bei der Automatisierung der N-Bestimmung nach PREGL eine Strömungsgeschwindigkeit von 2 ml/min vorgeschlagen haben, während wir nunmehr 1 ml/min als obere Grenze finden. Diese Diskrepanz findet ihre Erklärung in der unterschiedlichen Korngröße des Kupferoxyds bei beiden Versuchen. In dieser Arbeit verwenden wir grobes Kupferoxyd nach PREGL, während wir in der zitierten Arbeit ein Präparat der Korngröße 0,5—0,8 mm benützten. Letzteres ist, wie die Befunde zeigen, aktiver als das grobe Kupferoxyd.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die von PREGL angegebenen Bedingungen durchaus einer kritischen Nachprüfung standhalten. Das wesentliche Erfordernis ist die Einhaltung der von PREGL angegebenen Verbrennungsweise (auch individuelle Verbrennung genannt). Wir konnten zeigen, daß diese Verbrennungsweise keineswegs nur eine nützliche Vorschrift ist, um bessere Ergebnisse zu erhalten, sondern eine unumgängliche Voraussetzung für die Preglsche C-H- und N-Bestimmung. Hält man diese Verbrennungsweise nicht ein und verbrennt z. B. mit Hilfe eines gleichmäßigen Brennervorschubs, dann sind bei der C-H-Bestimmung mindestens 780° C und bei der N-Bestimmung 830° C erforderlich.

Experimenteller Teil

Aufnahme der Verbrennungskurve von Methan unter den Bedingungen der C-H-Analyse

Es wird die übliche C-H-Apparatur nach PREGL verwendet. Das zur Verwendung gelangende Methan wird einer Erdgasbombe entnommen. Zur Abmessung des Methans dient ein Halbmikroazotometer mit Kalilauge. Um das Azotometer als Gasbürette an die C-H-Apparatur anschließen zu können, wird in den kugelförmigen Trichter oberhalb des Azotometerhahns ein Gummistopfen mit einem Zu- und Ableitrohr eingesetzt. Diese beiden Rohre werden einerseits mit dem Blasenzähler, andererseits mit dem Verbrennungsrohr verbunden. Da das Erdgas oft geringe Mengen höherer Kohlenwasserstoffe enthält, wird vor dem Verbrennungsrohr ein U-Rohr mit Aktivkohle (sowie sicherheitshalber Natronasbest und Anhydrone) angebracht.

Das Methan wird durch den unteren Ansatz des Azotometers zugeführt, um nicht jedesmal die Verbindung mit der C-H-Apparatur lösen zu müssen. Allerdings ist es notwendig, Methan vorher mit Kohlendioxyd zu vermischen, da sich sonst zu große Blasen bilden, die im engen Meßteil des Azotometers nicht aufsteigen. Zum Vermischen hat sich folgende Einrichtung bewährt: An die Methanbombe und an den Kohlendioxydentwickler wird je ein Blasenzähler angeschlossen. Der von den Blasenzählern austretende Gasstrom wird über ein Y-förmiges Glasstück vereinigt. Die Frequenz des Blasenzählers der Methanbombe wird auf 4 Blasen/10 sec und die des Kohlendioxydentwicklers auf 30 Blasen/10 sec eingestellt. Beim Einleiten des Methan-Kohlendioxydgemisches ins Azotometer wird Kohlendioxyd sofort absorbiert, so daß nur relativ kleine Methanblasen aufsteigen. Bei etwa 4 ml Methan wird das Einleiten beendet.

Man stellt nun die Ofentemperatur des elektrischen Langbrenners an Hand einer Eichskala (in Watt) auf die in Abb. 1 angegebenen Werte ein und reguliert die Geschwindigkeit des Spülgases (Sauerstoff) auf 4 ml/min. Hierauf setzt man die Methanmenge allmählich im Verlaufe von 20 min zu. Nach 40 min werden die Absorptionsröhrchen abgenommen und gewogen. Zur Auswertung wird nur der Kohlendioxydwert herangezogen.

Da Erdgas oft noch geringe Mengen Stickstoff enthält, wird eine Probe bei 800° C verbrannt und der gefundene C-Wert als 100%-Wert allen übrigen Bestimmungen zugrunde gelegt.

Aufnahme der Verbrennungskurve von Methan unter den Bedingungen der N-Analyse

Es wird die übliche N-Apparatur nach Pregl verwendet. Als Langbrenner dient ein elektrischer Ofen, der mit Hilfe eines Widerstandes auf die gewünschte Temperatur eingestellt werden kann. Als Gasbürette wird ein Mikroazotometer verwendet, das wie oben an das Verbrennungsrohr angeschlossen wird. Die Beschickung der Gasbürette mit Methan erfolgt wie vorhin. Es werden etwa 1,4 ml Methan abgemessen.

Sobald im Azotometer der N-Apparatur Mikroblasen aufsteigen, wird die Methanmenge in 3 Anteilen binnen 10 min dem Verbrennungsrohr zugeführt. Nach beendeter Verbrennung wird das Volumen des unverbrannten Methans abgelesen. In gleicher Weise wird der Bezugswert für die Reinheit des Methans durch eine Testverbrennung bei 850° C ermittelt.

Notiz zum Kleben der Blasen im Azotometer

Bekanntlich kommt es gelegentlich zum Kleben der Blasen am Quecksilber des Azotometers, wodurch das Arbeiten außerordentlich erschwert wird. Als diese Erscheinung im Verlaufe dieser Arbeit auftrat, haben wir uns mit den Ursachen befaßt, nachdem alle bisher vorgeschlagenen Zusätze[5] zum Quecksilber, wie Kalomel, Eisenspäne sowie Quecksilberoxyd ohne Erfolg blieben.

Wir fanden folgende Ursachen: 1. Das Kleben wird oft durch ein feines Fetthäutchen verursacht, das meist vom Schmiermittel des Azotometerhahns stammt. Dieses gelangt entweder beim Auswaschen des Azotometers (von oben nach unten) oder durch das Auf- und Abwärtsbewegen der Lauge auf die Quecksilberoberfläche. Man muß daher das Azotometer so auswaschen, daß man das Spülwasser von unten nach oben (mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe) hindurchsaugt.

Als 2. Ursache fanden wir, daß Quecksilber mitunter mit Verbindungen verunreinigt ist, die mit Lauge eine Fällung ergeben. So beobachteten wir ein besonders hartnäckiges Kleben, als das Quecksilber — nach Reinigung mit verdünnter Salpetersäure — nicht hinreichend mit dest. Wasser ausgewaschen worden war. Das im Quecksilber enthaltene Quecksilbernitrat gab bei Zugabe von Lauge sofort eine Fällung von Quecksilberoxyd, welches die Blasen besonders hartnäckig festhielt.

Nach unseren Beobachtungen bietet reines Quecksilber, das nicht mit Fett oder sonstigen Salzen verunreinigt ist, die beste Gewähr, um das Kleben der Blasen am Quecksilber zu verhindern.

Folgende Arbeitsweise hat sich bei uns bewährt: Das Quecksilber wird mit verdünnter Salpetersäure (1:2) gereinigt. Falls kein Fallrohr[6] zur Verfügung steht, kann man auch einen Scheidetrichter verwenden. Ist das Quecksilber besonders stark verunreinigt, so setzen wir eine Spatelspitze Nitrit zu. Die entstehenden Stickoxyde oxydieren die unedlen Verunreinigungen schnell, greifen jedoch auch

das Quecksilber an. Man entfernt dann die Salpetersäure und das Quecksilbernitrat durch 3maliges Ausschütteln mit dest. Wasser. Das letzte Waschwasser darf keine Trübung mit Kalilauge oder Ammoniumchlorid geben.

Dann wäscht man das Azotometer unter Durchsaugen von warmen Wasser von unten nach oben hin aus. Hierauf wird das Quecksilber in die Azotometerbirne gegeben und von dort auf den Boden des Azotometers gebracht.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, inwieweit flüchtige Crackprodukte, insbesondere Methan, bei der Preglschen C-H- und N-Analyse quantitativ oxydiert werden. An Hand der Verbrennungskurve von Methan wird gezeigt, daß eine Ofentemperatur von 680°C sowohl bei der C-H-Bestimmung als auch bei der N-Bestimmung ausreicht, sofern die von PREGL vorgeschlagenen Strömungsgeschwindigkeiten (4 ml/min bei der C-H-Bestimmung und 0,5 ml/min bei der N-Bestimmung) eingehalten werden. Bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten sinkt der Prozentsatz an verbranntem Methan empfindlich ab. Im besonderen wird gezeigt, daß für die Verbrennung nicht so sehr die Strömungsgeschwindigkeit *vor* der Verbrennungszone, sondern vor allem *in* der Verbrennungszone maßgeblich ist. Die Geschwindigkeit in der Verbrennungszone hängt von der je Zeiteinheit entstehenden Menge an Verbrennungsprodukten — und damit vom Tempo der Vergasung ab. Bei zu schneller Vergasung steigt die Gasgeschwindigkeit in der Verbrennungszone außerordentlich an und macht höhere Ofentemperaturen erforderlich.

Bei der individuellen Vergasung nach PREGL erfolgt die Vergasung gleichmäßig und langsam; die Gasgeschwindigkeit in der Verbrennungszone wird dadurch nicht sonderlich erhöht. Bei der Automatik mit gleichmäßigem Brennervorschub steigt hingegen die Geschwindigkeit bei der Vergasung exponentiell an. Die Folge sind hohe Strömungsgeschwindigkeiten in der Verbrennungszone. Nach diesen Befunden ist die Einhaltung der individuellen Verbrennungsweise nach PREGL eine unumgängliche Voraussetzung, um mit einer Ofentemperatur von 700°C das Auslangen zu finden. Verbrennt man jedoch mit gleichmäßigem Brennervorschub, so sind bei der C-H-Bestimmung etwa 780°C und bei der N-Bestimmung 830°C empfehlenswert.

Literatur

[1] HALLETT, L. T.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **10**, 111 (1938); vgl. diese Z. **122**, 382 (1941). — [2] KAINZ, G.: diese Z. **166**, 427 (1959). — [3] KAINZ, G., u. L. HAINBERGER, S. J.: diese Z. **169**, 27 (1959). — [4] KAINZ, G., u. F. KASLER: diese Z. **168**, 425 (1959). — [5] NICHOLS, M. L.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **5**, 149 (1933). — STEYERMARK, A.: Quantitative Organic Microanalysis, The Blakiston Co., New York, Toronto, Philadelphia, 1951. — [6] TREADWELL, W. D.: Tabellen zur quantitativen Analyse, 2. Aufl., F. Deuticke, Wien 1947, S. 207. — [7] ZIMMERMANN, W.: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **31**, 149 (1944).

Univ.-Dozent Dr. GERALD KAINZ, Analyt. Inst. d. Universität, Wien IX., Währingerstr. 38 (Österreich)

Aus dem Forschungslaboratorium der Siemens-Schuckertwerke AG Erlangen

Die Bestimmung geringer Selengehalte in Kupfer als Piazselenol nach Abtrennung auf trockenem Wege

Von
W. Gebauhr und A. Spang

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Februar 1960)

Zur Bestimmung geringer Mengen von Selen in reinem Kupfer ist seine Abtrennung unumgänglich. Es lag nahe, die in neuerer Zeit vorgeschlagene Abtrennung durch Verdampfung[2,3] auch für die obige Aufgabe einzusetzen, da Selen sowohl in elementarer Form als auch als Dioxyd schon bei relativ niedriger Temperatur flüchtig ist.

Die für eine quantitative Anreicherung des Selens aus Kupfer notwendigen Verdampfungsbedingungen mußten zunächst festgelegt werden, was am einfachsten unter Benutzung seines radioaktiven Isotops ^{75}Se geschehen konnte. Da die im Kupfer im allgemeinen vorhandenen Selenmengen noch der colorimetrischen Bestimmung des 4wertigen Selens mit 3,3′-Diaminobenzidin[4] zugänglich sind, wurde dieses Verfahren zur mengenmäßigen Erfassung herangezogen. Daraus ergab sich, daß die Verdampfung zweckmäßig als SeO_2 vorzunehmen war, das man in einer ausgezogenen Capillare kondensieren ließ, analog dem Verfahren von Geilmann u. Neeb[3] zur Abtrennung des Zinks. Die von diesen vorgeschlagene apparative Anordnung wurde in allen Einzelheiten übernommen.

Das Anreicherungsverfahren

SeO_2 sublimiert in reinem Zustand bei 315° C. Einführende Versuche, bei denen zunächst 1,3 μg Selen in 20 μl salpetersaurer Lösung auf 200 mg Al_2O_3 als Matrix vorgelegt wurden, zeigten jedoch, daß eine merkliche Verflüchtigung erst oberhalb 600° C einsetzte. Diese Beobachtung konnte auch bei anderen Matrizes (Ca_3PO_4, Quarzsand) gemacht werden.

Die bei Verwendung eines Sauerstoffstromes anfänglich aufgetretenen stärkeren Selenverluste waren durch eine zu hohe Strömungsgeschwindigkeit des Sauerstoffs bedingt. Im Gegensatz zu den sonst üblichen Geschwindigkeiten von 100—150 ml/min ist es für die quantitative SeO_2-Kondensation notwendig, eine O_2-Strömungsgeschwindigkeit unterhalb 12 ml/min einzuhalten.

Für die folgenden Versuche wurde mit ^{75}Se markiertes Kupfermetall durch Zusammenschmelzen von elementarem, aktiviertem Reinstselen

(spezifische Aktivität etwa 30 μc/mg) und Elektrolytkupfer in H_2-Atmosphäre bei 1200° C hergestellt, was den praktischen Gegebenheiten annähernd gerecht werden dürfte. Es wurden 2 verschiedene Kupfersorten bereitet: Sorte 1 unter Zugabe auch von inaktivem Selen mit einem Selengehalt von $5 \cdot 10^{-2}$ % und einer spezifischen Aktivität von 0,08 μc/g Cu; Sorte 2 mit einem Selengehalt von $2 \cdot 10^{-4}$ % und einer spezifischen Aktivität von 0,06 μc/g Cu. Verschiedene, von den beiden Kupfersorten abgefeilte Einwaagen erwiesen sich als proportional den zugehörigen Aktivitätsraten, so daß mit einer homogenen Verteilung des Selens gerechnet werden konnte. Für die Untersuchungen wurden nur Korngrößen verwendet, die das Prüfsieb 0,5 DIN Nr. 12 = 144 Maschen/cm² passierten. Die mengenmäßige Ermittlung des Selens erfolgte bei allen Versuchen mit radioaktivem Material durch Ausmessen der γ-Strahlung des ^{75}Se im Bohrloch-Scintillationskristall nach jeweils entsprechender Eichung.

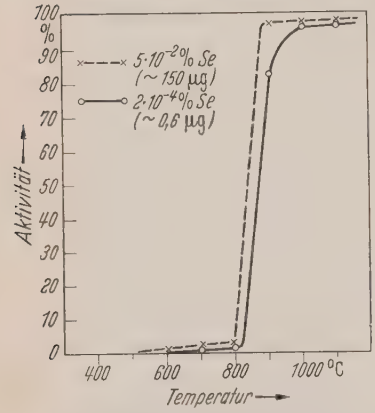

Abb. 1 Temperaturabhängigkeit der Selenverdampfung aus Kupfer. Verdampfungszeit: 30 min; O_2-Strömungsgeschwindigkeit: 8—10 ml/min

Temperaturabhängigkeit. Vorgelegt wurden etwa 300 mg der Sorte 1 oder auch 2. Die anfallenden Kondensate wurden mit 8 ml Königswasser aus der Capillare herausgelöst, die Lösung wurde in einem Reagensglas gesammelt und ihre Aktivität direkt im Bohrloch ausgemessen. Desgleichen wurden die Verdampfungsrückstände in 8 ml Königswasser gelöst und ihre Aktivität ebenso bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 graphisch aufgetragen.

Für die weiteren Untersuchungen wurde die Temperatur von 1000° C als zweckmäßigste Verdampfungstemperatur gewählt. Von einer höheren Temperatur ist abzuraten, da bereits bei einer Arbeitstemperatur von 1050° C die zurückbleibende Substanz als Schmelze anfällt, die sich nur durch längeres Einwirken von Königswasser aus den zur Verdampfung benutzten Schiffchen (Degussit Al 23) entfernen läßt. Bei 1000° C läßt sich das gesinterte Gut mit verdünnter Salpetersäure, die nur wenig Salzsäure enthält, in einigen Minuten herauslösen.

Zeitabhängigkeit. Die Untersuchungen zur Zeitabhängigkeit wurden analog denen zur Temperaturabhängigkeit wiederum mit beiden Modellsorten bei der nunmehr festgelegten Arbeitstemperatur von 1000° C durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Abb. 2.

Unter den angeführten Bedingungen erscheint also eine Verdampfungszeit von 45—60 min als völlig ausreichend, zumal die weitere Annäherung an den theoretischen Grenzwert nur noch asymptotisch erfolgt.

Abhängigkeit von der Selenmenge. Die bei den bisherigen Untersuchungen angefallenen Selenmengen lagen im μg-Bereich. Um dem Verfahren eine breitere Anwendungsbasis zu ermöglichen, war es angebracht, auch das Verhalten von Milligramm-Mengen zu überprüfen. Bei den sonst in gleicher Weise durchgeführten Untersuchungen wurden wechselnde Mengen Selen von 0,4—2,0 mg in salpetersaurer Lösung auf ungefähr

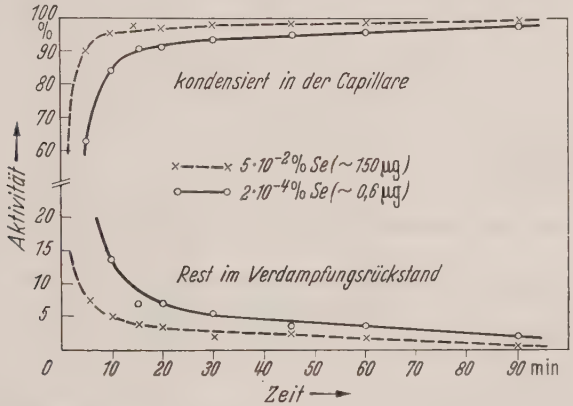

Abb. 2. Zeitabhängigkeit der Selenverdampfung aus Kupfer. Verdampfungstemperatur: 1000° C; 8—10 ml O_2/min

300 mg Cu-Feilspäne gegeben und verdampft. Tab. 1 zeigt, daß auch bei Vorliegen solcher Mengen eine quantitative Kondensation unter den gewählten Versuchsbedingungen (1000° C; 45 min; 8—10 ml O_2/min) erfolgt.

Tabelle 1. *Verdampfung von Milligramm-Mengen Selen*

Se vorgelegt	Aktivität		Summe	Se vorgelegt	Aktivität		Summe
	im Kondensat	im Rückstand			im Kondensat	im Rückstand	
mg	%	%	%	mg	%	%	%
0,4	99,3	0	99,3	1,6	98,9	0,5	99,4
0,8	96,7	0	96,7	2,0	98,8	1,1	99,9
1,2	96,5	0,3	96,8				

Abhängigkeit von der Kupfermenge (Einwaage). Da von vornherein damit zu rechnen war, daß erhöhte Schwierigkeiten bei geringen Selengehalten auftreten könnten, wurden diese Untersuchungen zunächst nur mit der Sorte 2 ($= 2 \cdot 10^{-4}$ % Se), sonst jedoch wie oben durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Abb. 3.

Wie zu erwarten, gelingt aus größeren Kupfereinwaagen eine quantitative Anreicherung des Selens erst nach längeren Verdampfungszeiten, doch verbleiben selbst in 3 g Cu nach 90 min nur etwa 4% im Rückstand. Bei einem Versuch mit der Sorte 1 ($5 \cdot 10^{-2}$ % Se) blieben nach 90 min

in einer Einwaage von 3 g nur 2,6% Selen zurück. Dergleichen große Einwaagen haben aber sehr geringe Selengehalte zur Voraussetzung, bei denen Fehler dieser Größenordnung nicht ins Gewicht fallen und durch die gegenüber den naßchemischen Methoden erhöhte Blindwertsicherheit des vorgeschlagenen Abtrennungsverfahrens aufgewogen werden.

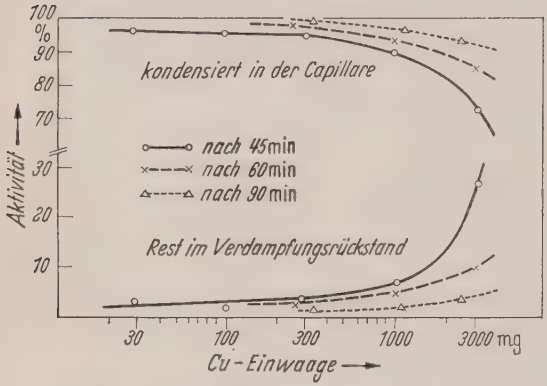

Abb. 3. Abhängigkeit der Selenverdampfung von der Kupfereinwaage

Arbeitsvorschrift für das Anreicherungsverfahren. Von der zu untersuchenden Kupferprobe wird eine ausreichende Menge so abgefeilt, daß Korngrößen anfallen, die das Prüfsieb 0,5 DIN Nr. 12 = 144 Maschen/cm² passieren. Man beschickt nun ein Schiffchen mit einer entsprechenden Einwaage an Cu-Feilspänen und schiebt dieses und einen Diffusionskörper in das Verdampfungsrohr. Sobald der auf 8 bis 10 ml je Minute einregulierte O_2-Strom angeschlossen ist, kann das Verdampfungsrohr in den auf etwa 1000° C angeheizten Ofen eingeschoben werden. Die verbleibenden Ofenöffnungen verschließt man zweckmäßig mit passenden Tonpfropfen. Die Verdampfungszeit richtet sich nach der Kupfereinwaage, jedoch sind 60 min bei Mengen um 300—500 mg Cu völlig ausreichend. Danach wird das Quarzrohr aus dem Ofen herausgenommen, in ein Stativ eingespannt und das Schiffchen bis zum Erkalten im O_2-Strom belassen. Schließlich werden zunächst Strömungskörper und Schiffchen aus dem Rohr entfernt und der SeO_2-Beschlag abgelöst. Dazu wird das Verdampfungsrohr mit der Capillare schräg nach unten gehalten oder — bei weniger Übung — eingespannt; unter die Capillarenspitze stellt man ein 10 ml-Meßkölbchen und tropft mittels einer genügend langen Capillarpipette — einem 5—8 mm weiten, einseitig zur Capillare ausgezogenen Glasrohr — unter gleichzeitigem Drehen des Rohres 4,0 ml einer 0,20 n Salzsäure auf die Ansatzstelle der Capillare.

Tabelle 2. *Verteilung des Gesamtfehlers der Anreicherung*

Fehler %	%	Fehler %	%
+ 2	8	± 0 bis — 1	33
+ 1 bis + 2	0	— 1 bis — 2	18
± 0 bis + 1	29	— 2	12

Zur Ermittlung des durch die vorgeschlagene Anreicherung erhaltenen Fehlers wurde eine Reihe von Bestimmungen mit 300 mg Einwaagen an Kupfer beider Modellsorten, d. h. also mit ^{75}Se und radioaktiver Endmessung von Kondensat und Rückstand durchgeführt. Der Selenrest in den Rückständen betrug nach 45 min Verdampfungszeit bei Sorte 1 ($5 \cdot 10^{-2}$% Se) im Mittel 1,5%, bei Sorte 2 ($2 \cdot 10^{-4}$% Se) 3%. Zur

Ermittlung des gesamten Fehlers wurde die Summe der Aktivitäten von Kondensat und zugehörigem Rückstand gebildet, die theoretisch 100% der eingesetzten Aktivität gleich sein muß. Die aufgetretene Differenz ist als Fehler in die 1. Spalte der folgenden Tab. 2 eingesetzt; die 2. Spalte gibt den Anteil der betreffenden Fehlergrenze an den insgesamt 51 Kontrollbestimmungen wieder. Die größte aufgetretene Abweichung betrug -5%, der Fehler der Aktivitätsmessung ist mit $\pm 1\%$ einzusetzen.

Das Bestimmungsverfahren

Die zur Mengenermittlung herangezogene colorimetrische Bestimmung mit 3,3′-Diaminobenzidin ist bereits mehrfach in der Literatur beschrieben worden[4,5]. Von uns waren daher lediglich die speziellen Erfordernisse des neuartigen Abtrennungsverfahrens zu berücksichtigen. Als Grundlage diente die Arbeitsweise von Hoste u. Gillis[5].

Tabelle 3. *Störung der Selenbestimmung als Piazselenol durch Elemente, die im O_2-Strom bei 1000° C mitgeführt werden*
Se vorgelegt: 3,00 μg; Fremdelement vorgelegt: 10,0 mg

Fremdelement	Se gefunden μg	Fehler %	Fremdelement	Se gefunden μg	Fehler %
In	3,00	± 0,0	Ge	2,97	− 1,0
Ga	3,13	+ 4,3	Cd	3,07	+ 2,3
Pb	2,97	− 1,0	Tl	3,13	+ 4,3
As	3,10	+ 3,3	Sb	2,93	− 2,3
Hg^{2+}	3,06	+ 2,0	B	2,73	− 9,0

Einleitende Untersuchungen bestätigten die von den Genannten gemachten Angaben über Extinktionsmaximum, Säureabhängigkeit und Entwicklungszeit. Insbesondere zeigte sich, daß die Salzsäurekonzentration einen großen Einfluß auf Entwicklungszeit und Farbintensität besitzt; diesem Umstand wurde entsprechend Rechnung getragen.

Die Aufstellung der Eichkurve erfolgte mit wechselnden Mengen Selen in 0,10 n salzsaurer Lösung, deren Volumen einschließlich 2 ml Reagenslösung (0,5% 3,3′-Diaminobenzidin in 0,10 n Salzsäure) 10 ml betrug. Die Messungen wurden nach 30 min Entwicklungszeit in einer 2 cm-Küvette mit einem Spektralphotometer bei 350 nm vorgenommen. Probebestimmungen von Selenkonzentrationen zwischen 0,04 und 0,5 μg Se/ml ergaben einen mittleren arithmetischen Fehler von $\pm 2{,}5\%$.

Besonderes Augenmerk wurde auf den Einfluß der bei dem gewählten Anreicherungsverfahren unter Umständen mitgeführten Elemente gerichtet. Die entsprechenden Messungen erfolgten in gleicher Weise mit insgesamt 3,0 μg Selen neben jeweils 10 mg des betrachteten Elementes in einer 5 cm-Küvette. Die berücksichtigten Elemente und die durch sie verursachten Abweichungen sind in Tab. 3 aufgeführt.

Mit Ausnahme von Bor zeigen die aufgeführten Elemente selbst bei dem sehr hoch gewählten Überschuß keinen wesentlichen Einfluß auf die Bestimmung des Selens. Abgesehen davon, daß die eingesetzte Bormenge nur ausnahmsweise in einer Probe auftreten wird, dürfte die hier beobachtete Störung möglicherweise nur auf die relativ hohe Fremdsalzkonzentration in der zu colorimetrierenden Lösung zurückzuführen sein (10 mg B = 46,5 mg $Na_2B_4O_7$ in 10 ml).

Tabelle 4. *Kontrollbestimmungen aus Quarzschiffchen und Kupferfeilicht*

Se vorgelegt µg	Se gefunden µg	Abweichung µg	Fehler %
	3,06	+ 0,06	+ 2,0
3,00 (Quarz)	3,15	+ 0,15	+ 5,0
	2,98	− 0,02	− 0,7
	9,9	− 0,1	− 1,0
10,0 (Quarz)	10,2	+ 0,2	+ 2,0
	10,1	+ 0,1	+ 1,0
3,00 (Cu-Feilspäne)	3,00	± 0,0	± 0,0
	3,15	+ 0,15	+ 5,0
	10,0	± 0,0	± 0,0
10,0 (Cu-Feilspäne)	10,2	+ 0,2	+ 2,0
	9,6	− 0,4	− 4,0

Wismut ist gesondert zu betrachten. Bereits ein 5facher Überschuß von Wismut in der zu colorimetrierenden Lösung führt zu merklichen Plusfehlern infolge des bei etwa 325 nm liegenden Absorptionsmaximums des Bi-Chlorokomplexes. Unter den gewählten Anreicherungsbedingungen ist mit dem Auftreten größerer Wismutmengen nur in stark wismuthaltigen Proben zu rechnen.

Neben den in der Tab. 3 genannten Elementen können nach Hoste u. Gillis[5] noch in 100fachem Überschuß zugegen sein: Al, Ba, Ca, Co, K, Mg, Mn, Mo^{6+}, Ni, Te^{4+}, Na, NH_4, Zn sowie Bromid-, Chlorid-, Nitrat-, Phosphat-, Sulfat-, Oxalat-, Citrat- und Tartrationen; geringe Kupfer- oder Eisenmengen können durch Oxalat- bzw. Fluoridzusatz maskiert werden.

Arbeitsvorschrift für die colorimetrische Bestimmung. Das Sublimat wird mit 4,0 ml einer 0,20 n Salzsäure aus der Capillare gelöst und diese Lösung in ein 10 ml-Meßkölbchen übergeführt; nach Zugabe von 2,0 ml der Reagenslösung kann mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt werden; jedoch hat sich auch unter normalen Umständen ein Zusatz von 2 ml einer 1%igen Ammoniumoxalatlösung, die außerdem noch 0,5% NaF enthält, als zweckmäßig erwiesen. Vergleichslösung* und Eichkurve sind entsprechend her- bzw. aufzustellen. Die Messungen erfolgen bei 350 nm nach 30 min Entwicklungszeit.

* Wegen der leichten Oxydierbarkeit der Reagenslösung schon bei Zimmertemperatur ist auf eine gleichartige Behandlung von Probe- und Vergleichslösung zu achten.

Kontrollbestimmungen. Zur Kontrolle der vorgeschlagenen Selenbestimmung wurden zunächst bekannte Selenmengen in salpetersaurer Lösung aus Quarzschiffchen, dann aus Cu-Feilspänen und schließlich auch aus einer zur Verfügung stehenden Kupferprobe mit bekanntem Selengehalt verdampft. Dabei wurde nach den gegebenen Arbeitsvorschriften verfahren. Die Ergebnisse sind in den Tab. 4 u. 5 zusammengestellt.

Tabelle 5. *Selenbestimmung in Kupfer*

Cu-Einwaage mg	Se gefunden µg	Se-Gehalt %	Cu-Einwaage mg	Se gefunden µg	Se-Gehalt %
26,8	2,36	$8{,}8 \cdot 10^{-3}$	103,9	9,1	$8{,}8 \cdot 10^{-3}$
54,5	4,75	$8{,}7 \cdot 10^{-3}$	192,0	16,5	$8{,}6 \cdot 10^{-3}$

Der aus 50 g Einwaage nach einem Schiedsverfahren[1] ermittelte Selengehalt betrug $8{,}2 \cdot 10^{-3}$ %. Die geringe Differenz zwischen diesem Wert und dem Mittelwert obiger Bestimmungen kann durch die unterschiedliche Anreicherung des Selens erklärt werden.

Zusammenfassung

Aus Kupfer können geringe Selenmengen quantitativ und blindwertfrei durch Verdampfen als SeO_2 abgetrennt werden, wie eine Überprüfung mit ^{75}Se ergab. Die nach einem solchen Abreicherungsverfahren beim Selen noch verbleibenden Elemente beeinflussen, abgesehen von größeren Gehalten an Wismut, die anschließende Bestimmung mit 3,3′-Diaminobenzidin nicht.

Literatur

[1] Analyse der Metalle, I. Schiedsverfahren, 2. Auflage, 1949, S. 292. — [2] Geilmann, W.: diese Z. **160**, 410 (1958). — [3] Geilmann, W., u. R. Neeb: Angew. Chem. **67**, 26 (1955); vgl. diese Z. **148**, 388 (1955/56). — [4] Hoste, J.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 402 (1948); vgl. diese Z. **132**, 50 (1951). — [5] Hoste, J., u. J. Gillis: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 158 (1955), vgl. diese Z. **148**, 230 (1955/56).

Dr. W. Gebauhr, Forschungslaboratorium der Siemens-Schuckertwerke AG., Erlangen, Werner-von-Siemens-Straße 50

Texas Southern University, Houston, Texas (USA)

A Screened Indicator of Methyl Orange with Sulfonated Copper Phthalocyanine

By
T. P. Sastry and Samuel A. Pratt III

(Received March 15, 1960)

Though methyl orange has long been in use as a standard indicator in acid-base titrations, it suffers from certain serious disadvantages. The indicator is too insensitive requiring almost two p_H units to change from the acid color to the alkaline. Further, on account of the overlapping spectra of these two colors the indicator gives such indistinct endpoints that much difficulty is experienced even by skilled operators in detecting the true end-point. These defects can however be remedied by combining the indicator with a dye, the color of which is complementary to one of the indicatorcolors. Luther[3] and Kirschnick[2] were the first to suggest such a modified indicator. They recommended a mixture of methyl orange and indigo carmine. Hickman and Linstead[1] used xylene cyanol FF instead of indigo carmine. But these dyemixtures cannot be stored over long periods because of the tendency of the dyes to undergo photochemical degradation.

In a prior communication we have described the use of sulfonated phthalocyanines as dye-constituents to improve the methyl red endpoint[4]. Of the different metalleted phthalocyanine sulfonates investigated in this connection, copper phthalocyanine was found to be most suitable. On account of the high tintorial power of this dye and its marked resistance to photochemical decomposition, we have now considered it worthwhile to extend its use to the improvement of methyl orange endpoint. Studies made in this connection regarding the optimum concentration of the dye to be mixed with a definite amount of the indicator and the conditions under which this mixture can be used in practical titrations, are reported in the following columns.

Experimental

A 0.1 percent solution of copper phthalocyanine sulfonate is prepared from the sample kindly supplied by Messrs. Dupont De Numours and Company. The dye is reported to be 4—4′-4″-4‴ copper phthalocyanine tetrasulfonate potassium salt, 87.3 percent pure, inorganic salts accounting for the rest.

To determine the proportions of methyl orange and copper phthalocyanine tetrasulfonate (hereafter referred to as the 'dye') to be mixed

together, we have prepared stock mixtures of indicator and dye in proportions of 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1, 2 : 3 and 1 : 2 respectively. The transformation interval and the quality of color change for each of these mixtures are studied by the following procedure:

A series of buffer solutions have been prepared varying in p_H from 3 to 5 with intervals of 0.2 p_H units. One drop of the indicator-dye mixture is added to 10 ml of each of these buffers and the colors obtained are compared. The observations are recorded in Table 1.

Table 1

Ratio of methyl orange to dye	p_H range over which the color is transformed	Contrast of colors on either side of the p_H range
4 : 1	3.6—4.0	good
2 : 1	3.4—3.8	good
1 : 1	3.3—3.6	excellent
2 : 3	3.2—3.5	good
1 : 2	3.1—3.6	poor

An interesting point that emerges from the facts of Table 1 is the progressive drift downwards of the transformation interval of the indicator as the concentration of the dye increases in the mixture. Of the different combinations reported in the table, the 1 : 1 mixture is found to give the best color contrast; other mixtures though less satisfactory, they are in any event better than the single unaided indicator.

The 1 : 1 mixture, in spite of the superior end point it promises, has some limitations to its applicability. When this mixture is used in titrations of sodium carbonate with decinormal hydrochloric acid the color change was so gradual that the end point could not be established with any degree of certainty. We interpret this as due to the transformation interval of the indicator not synchronizing with the p_H change prevailing at the equivalence point of the titration, the former occuring much too soon. As this discrepancy does not exist in titrations with one normal solution it is expected that the 1 : 1 mixture will function normally in this case and give theoretical values. Titrations have been carried out to elucidate these points using the 1 : 1 mixture as indicator both in titrations of decinormal as well as normal solutions. The results are presented in Table 2. In Table 3 are recorded values obtained when the same mixture is used in titrations of hydrochloric acid with sodium hydroxide. Titrations indicated by asterisk are carried out using a microburette.

From Tables 2 and 3 it will be seen that the 1 : 1 mixture serves as an excellent indicator in titration employing normal solutions. But when it comes to working with decinormal solutions the indicator is practically useless in titration of sodium carbonate with hydrochloric acid while in

hydrochloric acid sodium hydroxide titrations the values obtained agree well with the theoretical provided an indicator correction of +0.1 ml of sodium hydroxide is applied.

Table 2. *X ml of Sodium Carbonate Solution + Carbon Dioxide Free Water to Make up a Total Volume of 100 ml + Three Drops of the 1 : 1 Indicator-Dye Mixture — Titrated with Standard Hydrochloric Acid*

Titration with 0.1 N hydrochloric acid				Titrations with 1 N hydrochloric acid			
Sodium carbonate taken g	Volume of HCl required: calculated	with 1:1 mixture	remarks	Sodium carbonate taken g	Volume of HCl required: calculated ml	with 1:1 mixture ml	remarks
0.0610	titration not possible because			0.5009	9.45	9.45	color changes from green
0.1221	of gradual color change of the			1.0018	18.90	18.85	to pink through a neutral color
0.1832	indicator			1.5027	28.35	28.35	of very light
0.2442				2.0036	37.80	37.75	gray. The neu-
0.3052				2.5045	47.25	47.25	tral color is taken as the end-point

As the discrepancy observed above in titrations of decinormal solutions was due to the rather low p_H level at which the indicator changes color, we have now tried the 4 : 1 mixture containing only one part of the dye for each four parts of the methyl orange indicator. This mixture

Table 3. *X ml of Hydrochloric Acid Solution + Carbon Dioxide Free Water to Make up to a Total Volume of 100 ml + Three Drops of the 1 : 1 Indicator-Dye Mixture — Titrated with Standard Sodium Hydroxide*

Titrations with 0.1 N sodium hydroxide				Titrations with 1 N sodium hydroxide			
Vol. of hydrochloric acid solution taken ml	Volume of sodium hydroxid required: theoretical ml	found with 1:1 mixture ml	remarks	Vol. of hydrochloric acid solution taken ml	Volume of sodium hydroxide required: theoretical ml	found with 1:1 mixture ml	remarks
10	11.70	11.58*	the first appear-	10	9.25	9.26*	the appearance
20	23.40	23.30	ance of a com-	20	18.50	18.50	of a neutral pale
30	35.10	35.00	plete green color	30	27.75	27.70	gray color is ta-
40	46.80	46.70	is taken as the end point	50	46.25	46.30	ken as the end point

* Carried out with a microburette.

starts changing its acid color at a higher p_H than the 1 : 1 mixture, the transformation occuring between p_H 3.6 and 4.0. All titrations reported in Table 2 and 3 are repeated substituting this time the 4 : 1 mixture for the 1 : 1. The results obtained are recorded in Table 4.

It is evident from Table 4 that the 4 : 1 mixture of methyl orange and dye serves as an excellent indicator in titrations employing normal or even decinormal solutions. The color change at the end point is sharp and very much superior to that of methyl orange alone. The indicator correction is negligible in all cases except in the titration of sodium carbonate

Table 4. *Titrations Using 4 : 1 Mixture of Methyl Orange and Dye as Indicator*

a) Sodium Carbonate-Hydrochloric Acid

Titrations with 0.1 N hydrochloric acid				Titrations with 1 N hydrochloric acid			
Sodium carbonate taken g	Volume of HCl required: calculated	Volume of HCl required: found with 4:1 mixture	remarks	Sodium carbonate taken g	Volume of HCl required: calculated	Volume of HCl required: found with 4:1 mixture	remarks
0.0610	11.58	11.62*	color changes	0.5009	9.45	9.45*	neutral color is
0.1221	23.16	23.30	from green to	1.0018	18.90	18.90	taken as end
0.1832	34.74	34.80	pink through a	1.5027	28.35	28.35	point
0.2442	46.32	46.35	neutral shade of	2.0036	37.80	37.75	
0.3052	57.90	57.95	light orange. The neutral color is taken as end point	2.5045	47.25	47.30	

b) Hydrochlorid Acid — Sodium Hydroxide

Titrations with 0.1 N sodium hydroxide				Titrations with 1 N sodium hydroxide			
Hydrochloric acid taken ml	Volume of sodium hydroxide required: calculated	Volume of sodium hydroxide required: found with 4:1 mixture	remarks	Hydrochloric acid taken ml	Volume of sodium hydroxide required: calculated	Volume of sodium hydroxide required: found with 4:1 mixture	remarks
10	11.70	11.68*	neutral color is	10	9.25	9.26*	neutral color is
20	23.40	23.40	taken as end-	20	18.50	18.50	taken as end-
30	35.10	35.10	point	30	27.75	27.80	point
40	46.80	46.80		40	37.00	37.00	
50	58.50	58.25		50	46.25	46.25	

against decinormal hydrochloric acid where a volume of 0.05 ml of the acid is required to be subtracted to approach the theoretical values. The impurities present in the dye have no effect whatsoever either on the quality or the correctness of the end point.

The stability of this indicator-dye mixture is tested by leaving the solution in plain colorless bottles over long periods. One such solution prepared about six months back is tested for its indicator action by using it in a few typical titrations. Excellent values are obtained comparable to those given by a freshly prepared mixture itself, thus showing that the quality of the mixture has not suffered by long standing. The advantage offered by this indicator-dye mixture over methyl orange

alone is further established by carrying a few titrations in weak and artificial light. While the end-points with the new mixed indicator could be easily detected it was practically impossible to mark the color change when methyl orange alone was used.

In view of these definite advantages we recommend a mixture containing one part of dye for each four parts of methyl orange as a good substitute in all titrations where methyl orange is used as indicator. As the dye used in these investigations is copper phthalocyanine tetra sulfonate, potassium salt, 87.4 percent pure, account may be taken of this fact while computing the concentration of a different sample of the dye to be mixed with a definite amount of methyl orange.

Summary

Copper phthalocyanine tetra sulfonate pottasium salt, has been found to be very useful as a screening-dye to improve methyl orange end-points.

Mixtures of methyl orange and dye in varying proportions have been prepared and tested for their indicator-action. The transformation interval of the indicator is found to change as the concentration of the dye is varied in the mixture.

The optimum concentration of the dye to be used with a certain amount of methyl orange is determined so as to give a mixed-indicator that functions most satisfactorily in all titrations where methyl orange is used.

Acknowledgement. We wish to express our sincere thanks to Research Corporation for their generous grant in support of this work.

References

[1] Hickman, K. C. D., and R. P. Linstead: J. chem. Soc. (London) **121**, 2502 (1922). — [2] Kirschnick, C.: Chemiker-Ztg. **31**, 960 (1907). — [3] Luther, R.: Chemiker-Ztg. **31**, 1172 (1904). — [4] Sastry, T. P., u. S. A. Pratt III: Z. analyt. Chem. **174**, 359 (1960).

Dr. T. P. Sastry, Associate Professor, Texas Southern University, Houston 4, Texas (USA)

Institute for Inorganic and Analytical Chemistry, University of Szeged, Szeged, Hungary

Oxalate Interference in Cerimetry

By
L. J. Csányi and F. Szőke

With 1 Figure in the Text

(Received April 11, 1959)

Recently Gopala Rao and coworkers have reported interesting observations in a series of publications. In presence of oxalic or other carboxylic acids (e.g. mandelic, tartaric, malic, citric and lactic acid) they observed a considerable positive error in the titration of hydroquinone[9] and iron(II)[6,7], ions with cerium(IV) sulphate. They also observed that oxalic acid interferes in the cerimetric determination of indigo sulphonate[8]. According to their explanation cerium(IV) ions as actor on the effect of reducing agents mentioned as inductors attack the oxalic or other carboxylic acids (acceptors). Although they gave no particular explanation of the mechanism of the induced reaction, their observations are of interest. Namely, in the general opinion the 1-equivalent oxidizing ceric-cerous system cannot exert an inducing effect since here are no intermediates active from redox point of view. Therefore in order to control our knowledge about the induced reactions it seemed to be important to examine Gopala Rao and coworkers' statements in particulars.

There are about equal arguments pro and contra the explanation of the authors mentioned. The supposition of an induced reaction is supported by the fact that 1. the positive error is proportional to the concentration of oxalic or other carboxylic acids, 2. the extent of the positive error greatly depends on the rate of titration considered by us to be a characteristic property of the induced reactions[3], 3. the induction factor depends strongly on the concentration of hydrogen ions of the solution.

On the other hand considering the chemical meaning of the supposed induced reaction one must refuse this explanation. As there are no active intermediates in the ceric-cerous system therefore the "acceptor" ions can be oxidized only by cerium(IV) ions. Thus the induced reaction resulting in a positive error can be only explained so that on the effect of cerium(IV) ions the "inductor" gets into a higher oxidation state which easily oxidizes the resistant oxalic or other carboxylic acids. Accepting this, it is not reasonable that in the iron(II)-oxalic acid system

iron(IV) — formed on effect of cerium(IV) — should react with resistant oxalic acid; for there are iron(II) ions present till the end point of titration and so the reaction

$$Fe^{2+} + Fe^{4+} = 2\,Fe^{3+}$$

could be expected. In the case of hydroquinone, quinone (and/or semiquinone) formed during oxidation is not a sufficiently strong oxidizing agent for the oxidation of oxalate ions. In view of all these difficulties we are of the opinion that these phenomena are not of induction character and therefore must be otherwise interpreted.

For the occurrence of a positive error it seems reasonable to suppose that oxalic or other carboxylic acid as "acceptor" is oxidized directly by cerium(IV) ions without the rate of this reaction being influenced by the reaction between "inductor" reducing agents (e.g. iron(II) ions, hydroquinone, indigo carmine, etc.) and cerium(IV) ions, — i.e. an induced reaction would take place. In other words, beside the oxidation of iron(II) ions, hydroquinone etc., one must take into account the competing reaction between oxalic acid and cerium(IV) ions. The competing reaction of oxalic acid becomes considerable near the end point, being the "inducing" reaction even slower when the concentration of iron(II) ions, hydroquinone etc. decreases, while, due to the slight changes in the concentration of oxalic acid, the reaction between oxalic acid and cerium(IV) takes place with the original rate.

The following experimental results support this briefly mentioned explanation.

Experimental Results

The behaviour of systems described by Gopala Rao and coworkers was controlled also by us. The results of our experiments carried out according to the given prescriptions agree only qualitatively, from quantitative point of view there is a considerable difference which will be exhaustively interpreted below.

Gopala Rao and coworkers in their papers emphasized that changes in the speed of the titration influence the value of the induction factor, but they give no details on the extent and direction of this effect. Since according to our previous observations any change in the titration rate considerably influences the extent of induced reaction[3], detailed investigations are of interest. Our measurements (Table 1) show that on titrating iron(II) ions in presence of oxalic acid the speed of delivery of cerium(IV) sulphate does not influence the positive error.

The dilution of solution to be determined increases the error at constant acidity and oxalic acid concentration. This can be seen in Table 2.

Titrating with cerium(IV) perchlorate instead of cerium(IV) sulphate interesting results are obtained. For sake of comparison data of measurements with cerium(IV) sulphate are also given. Our data (Table 3) show that on applying cerium(IV) perchlorate the positive error is considerably greater than in case of cerium(IV) sulphate.

In accordance with Gopala Rao and coworkers we found that either the increase of the concentration of sulphuric acid, or the addition of phosphoric acid or fluoride ions strongly reduce the positive error. We, too, mention that the addition of greater quantity of chloride ions also reduces the positive error markedly.

The determination of iron(II) ions by oxalic acid was carried out also potentiometrically. Data are summarized in Table 4.

On comparing the 1100 to 1150 mV potential obtained on effect of the excess of cerium(IV) sulphate with the 850—880 mV maximal potential value observed in the presence of oxalic acid we must say that the presence of oxalate ions—apparently due to complex formation — decreases the activity of cerium(IV) ions very markedly. The complex formation is supported by the observation, too, that adding cerium(IV) sulphate to a solution containing oxalate an intensive dark

Table 1. *Effect of the Speed of the Titration*

Taken 0,05 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Found 0,05 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Oxalic acid 0,1 N	Duration of titration in min
ml	ml	ml	
4.615	4.61	0.0	1.68
4.615	4.62	0.0	1.69
4.615	4.75	10.0	0.73
4.615	4.75	10.0	1.00
4.615	4.74	10.0	2.95
4.615	4.73	10.0	8.03
4.615	4.76	10.0	1.41

Initial volume: 60 ml.
Acid concentration: 2 ml 2% sulfuric acid/sample.

Table 2. *Effect of the Dilution*

Taken 0,04 N hydroquinone	Found 0,04 N hydroquinone	Initial volume	10 N Sulfuric acid	Oxalic acid	Difference
ml	ml	ml	ml	ml	ml
8.75	8.75	150	15	0.0	0.0
8.75	8.88	150	15	5	0.31
8.75	9.09	300	30	10	0.52
8.75	9.19	450	45	15	0.62

Table 3

Effect of the Quality of Measuring Solution on the Extent of the Titration Error

Taken 0,04 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Found 0,04 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Oxalic acid	Difference	Taken 0,04 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Found 0,04 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$	Oxalic acid	Difference
ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml
Titration with 0.04 N $Ce(ClO_4)_4$ soln.				Titration with 0.04 N $Ce(SO_4)_2$ soln.			
8.26	8.26	0.0	0.0	8.26	8.26	0.0	0.00
8.26	8.45	1.0	0.19	8.26	8.41	1.0	0.15
8.26	8.70	2.0	0.44	8.26	8.48	2.0	2.22
8.26	8.87	3.0	0.61	8.26	8.51	3.0	0.25
8.26	9.26	5.0	1.00	8.26	8.64	10.0	0.38
8.26	9.45	8.0	1.19	8.26	8.59	20.0	0.33
8.26	9.56	10.0	1.30				

Initial volume: 50 ml.

reddish colour appears, the intensity of which soon diminishes. The potential of solution decreases parallel to the weakening of intensity of colour. In about 2 minutes the solution decolourizes and the potential decreases to the value measured before

the end point. This fact refers to the considerable velocity of reaction between cerium(IV) ions and oxalic acid. Therefore it seemed interesting to study the reaction between cerium(IV) and oxalate ions. To this end by different sulphuric

Table 4. *Titration of a Solution Containing cca. 2.00 ml of 0,10 N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ Solution and 3 ml of 20% Sulfuric Acid with 0.04 N $Ce(SO_4)_2$ Solution*
Initial Volume: 50 ml

0,04 N $Ce(SO_4)_2$	Potentials		0,04N $Ce(So_4)_2$	Potentials	
	in absence	in presence		in absence	in presence
ml	of 10 ml 0.1 N oxalic acid		ml	of 10 ml 0.1 N oxalic acid	
0.0	300	283	4.80	528	450
1.0	390	315	4.85	790	462
2.0	410	340	4.90	950	475
3.0	430	370	5.00	1018	730*—620**
4.0	453	400	5.10	1065	830*—641**
4.5	478	425	5.20	1080	850*—670**
4.70	503	440	5.50	1105	880*—680**

Values* sign the initial maximal deflection of the needle of electronic tube voltmeter.

Values** sign the potentials measured vs. S.C.E. after 2 min waiting period, which yet are not equilibrium ones.

Table 5

Taken 0.04 N H_2O_2	Found 0.04 N H_2O_2	Sodium oxalate 0.1 N	20% H_2SO_4	$Ce(NO_3)_3$ 0.1 N	Difference
ml	ml	ml	ml	ml	ml
9.95	9.95	0.0	2	—	0.00
9.95	10.12	1.0	2	—	0.17
9.95	10.13	3.0	2	—	0.18
9.95	10.15	5.0	2	—	0.20
9.95	10.25	10.0	2	—	0.30
9.95	10.31	20.0	2	—	0.36
9.50	9.50	0.0	2	—	0.00
9.50	9.78	10.0	1	—	0.28
9.50	9.66	10.0	3	—	0.16
9.50	9.58	10.0	5	—	0.08
9.50	9.54	10.0	10	—	0.04
9.50	9.51	10.0	20	—	0.01
9.50	9.50	0.0	1	—	0.00
9.50	9.78	10.0	1	—	0.28
9.50	9.74	10.0	1	1	0.24
9.50	9.70	10.0	1	3	0.20
9.50	9.64	10.0	1	5	0.14
9.50	9.54	10.0	1	10	0.04

Initial volume: 50 ml.

acid concentrations cerium(IV) sulphate and oxalate solutions were mixed and the amount of cerium(IV) ions remained were determined iodometrically in short intervals. Measurements show that oxalate applied in small excess reduced more

than 90% of cerium(IV) ions already in 1.0—1.3 minutes. The rate of reactions decreased in a slight extent with the increase of the sulphuric acid concentration.

Finally we mention that in order to collect more data a new model reaction was looked for and so the determination of hydrogen peroxide in the presence of oxalate was also carried out. By the titration ferroin was applied as inside indicator because N-phenyl anthranilic acid is destroyed already at the initial stage of the titration. Results summarized in Table 5 show that the positive error in the amount of hydrogen peroxide increases with the increase of the concentration of oxalic acid. The increase of concentration of sulphuric acid results in the decrease of the error. Adding phosphoric acid, fluoride or chloride ions in greater quantity the positive error also diminishes and if these substances are present in sufficient quantity, correct data are obtained. Potentiometric titrations similarly to iron(II) ions-oxalic acid system, show that the presence of oxalate ions strongly decreases the activity of cerium(IV) ions. Carrying out the titrations with cerium(IV) perchlorate instead of cerium(IV) sulphate the positive error, similarly to data summarized in Table 3, considerably increased.

Discussion

The fundamental question of our explanation is the rate of reaction between oxalic acid and cerium(IV) ions. This reaction has been only scarcely investigated until recently. Ross and Swain[10] could examine only the reactions of very diluted oxalic acid and cerium(IV) sulphate solutions with their electrochemical method, since in the case of more concentrated solutions the potential data could not be interpreted, due to complex formation. According to their results the reaction is bimolecular.

Dodson and Black[4] have also investigated the reactions of diluted solutions at different concentrations of sulphuric acid. Their data refer also to a bimolecular reaction but complex formation has not been observed. They found that with the increase of the concentration of sulphuric acid the rate of reaction decreases.

In the more concentrated solutions applied by us (0,01—0,06 M) — as it had been already mentioned — the reaction was found accordingly more rapid (in 1.0—1.3 min the conversion is more than 90%). On the contrary, Gopala Rao and coworkers several times emphasized that "under ordinary circumstances ceric sulphate does not react rapidly enough with oxalic acid in the cold, as can be seen by the fact that the addition of the first drop of ceric sulphate to the cold acidified oxalic acid solution immediately produces the colour change of the diphenylbenzidine (or N-phenyl anthranilic acid) indicator". In our opinion this observation can only be interpreted that the rate of reaction between redox indicator and cerium(IV) ions is greater than that between oxalic acid and cerium(IV) ions.

Summarizing the facts mentioned above we regard our explanation described in the introduction to be proved: the error originates not from an induced reaction but from the rapid reaction between cerium(IV) and oxalate ions. In our opinion the positive error is caused so that

during the cerimetric titration of iron(II) sulphate, hydroquinone etc., a part of cerium(IV) ions is momentarily transferred into an oxalato complex. Being the stability of oxalato complex great enough — as it is proved by the considerable potential decrease — we think that the rate of reaction between cerium(IV)-oxalato complex and reducing agent to be determined [iron(II)-ions, hydroquinone, etc.] is commensurable with that of the decomposition of cerium(IV)-oxalato complex. Be this true, a considerable part of cerium(IV)-ions transformed into oxalato complex does not take part in the determination and at the same time the decomposition of oxalato complex formed results in the positive error. In our opinion the reaction between cerium(IV) and oxalate ions takes place in analogous manner to the decomposition of manganese(III)-oxalato complex examined by Duke[5]. So the following exchange reaction takes place between oxalate and cerium(IV) ions supposing the presence of trisulphato-cerate ions:

$$Ce(SO_4)_3^{2-} + HC_2O_4^- \rightleftharpoons \left[\begin{array}{c} O \quad\quad O \\ \diagdown\!\!\diagup \quad \diagdown\!\!\diagup \\ C \cdots C \\ | \quad\quad | \\ |O| \quad |O| \\ \diagdown \quad\quad \diagup \\ Ce^{IV} \\ \| \quad\quad \| \\ SO_4 \quad SO_4 \end{array}\right]^{2-} + HSO_4^- \qquad (1)$$

In the chelate complex formed, cerium(IV)-ions having strong electron pull effect remove an electron from the oxalate and result in the breaking of C-C bond. In the subsequent fast steps oxalate residue will be oxidized into carbon dioxide. Being the exchange reaction very rapid the rate of oxidation of oxalate ions, R, is determined by reaction (2):

$$\left[\begin{array}{c} O \quad\quad O \\ \diagdown\!\!\diagup \quad \diagdown\!\!\diagup \\ C \cdots C \\ | \quad\quad | \\ |O| \cdots |O| \\ \diagdown \quad\quad \diagup \\ Ce^{IV} \\ \| \quad\quad \| \\ (SO_4)_2 \end{array}\right] \longrightarrow \left[\begin{array}{c} O \quad\quad O \\ \| \quad\quad \| \\ C \cdot \quad\quad C \\ | \quad\quad \| \\ |O| \quad\quad O|^{(+)} \\ \diagdown \quad\quad \diagup \\ Ce^{III} \\ \| \quad\quad \| \\ (SO_4)_2 \end{array}\right] \rightarrow Ce^{III} + CO_2 + O = \dot{C} - O^{(-)} \qquad (2)$$

$$O = \dot{C} - O^{(-)} + Ce^{IV} \cdot \rightarrow CO_2 + Ce^{III}$$

$$R = k\,[\text{cerium(IV)-oxalato complex}]$$

As the concentration of cerium(IV)-oxalato complex is determined by equilibrium (1) we can write:

$$R = kK \frac{[Ce(SO_4)_3^{2-}]\,[HC_2O_4^-]}{[HSO_4^-]}. \qquad (3)$$

Experimental data of Dodson and Black proved the correctness of eqn. (3) in all. The acid dependence of the reaction is also obtained if instead of acid concentrations the values of Hammett's acidity functions, H_0, are used (Fig. 1). In view of our preliminary measurements we can say that the stability of cerium(IV)-oxalato complex is somewhat greater than that of trisulphatocerate ($K \geqq 20$).

Gopala Rao and coworkers' and our experiences are in accordance with the above explanation:

1. Changes in the speed of titration do not influence the extent of positive error. This is reasonable as the positive error depends on the rate relations of the reactions of the reducing agent to be determined and oxalic acid, resp., with cerium(IV) sulphate. Being both reactions influenced by the concentration of cerium(IV) ions it is evident that the changes in the local concentration, due to changes in the speed of the titration, do not influence the mentioned rate relations.

2. On diluting the solution titrated, keeping the acid and oxalic acid concentration constant, the positive error increases. In this case as the concentration of reducing agents [iron(II)ions, hydroquinone etc.] decreases, due to the dilution, the rate of reaction between reducing agent and cerium(IV) ions also decreases, therefore the competition reaction between cerium(IV) and oxalate ions plays a more important role since there is no considerable change in its velocity.

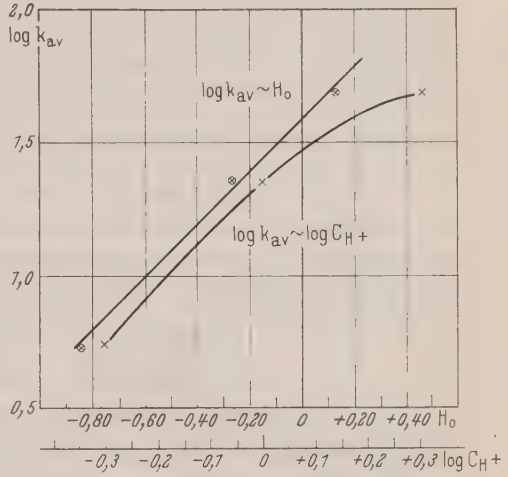

Fig. 1. Acid Dependence of the Reaction between Oxalic Acid and Cerium(IV)Ions according to Dodson and Black[4]

3. The cause of greater error in titrations with cerium(IV) perchlorate solution is that in this case exchange reaction (1) is even more rapid and the equilibrium shifts towards the formation of the stable cerium(IV)-oxalato complex, since in this case instead of trisulphatocerate an aquocomplex reacts. As the concentration of cerium(IV)-oxalato complex is greater the positive error will increase. Further mention had been made that we succeeded in supporting Gopala Rao and coworkers' results only qualitatively. In our opinion the cause of deviation from quantitative viewpoints may lay in differences in the structure of cerium(IV) solutions applied. It is well known[1] that cerium(IV) ions rather incline to hydrolyse and the different hydroxo complexes formed are very stable even in more concentrated acid solution. Just the fact that at systems treated here cerium(IV) solutions of different origin give different results supports our explanation on the reaction and emphasizes the importance of the complex forming reaction between cerium(IV) and oxalate ions.

4. Positive error decreases on increasing the concentration of sulphuric acid, on adding phosphoric acid, fluoride, chloride ions, etc., and these substances being present in sufficient quantity the error is eliminated. These ions form without exception stable complexes with cerium(IV) ions, therefore they markedly decrease

the concentration of oxalatocerate complex according to equilibrium (1). The concentration of these ions being sufficiently great the formation of cerium(IV)-oxalato complex may be fully suppressed, and so the reaction between cerium(IV) ions and oxalate cannot take place and the positive error disappears.

5. Effect of mandelic, tartaric, malic, citric and lactic acids described by Gopala Rao and Jagan Mohan[6] was not investigated in detail by us but considering the behaviour of these substances we think it very probable that they cause the positive error analogously with oxalic acid.

6. Data in Table 5 show that addition of cerium(III) ions diminishes the induction error. As it is known, cerium(III) ions form a stable complex with oxalic acid thus in the presence of cerium(III) ions the concentration of oxalate ions decreases, so the amount of oxalato cerate complex formed in equilibrium (1) decreases together with the positive error. Similar effect was described by Gopala Rao and coworkers in Table 2 of their paper (see ref.[7]). They found that increasing the amount of iron(II) ions at constant amount of oxalic acid the value of induction factor decreases while the positive error changes through a maximum. The cause of this behaviour in our opinion is that during the titration of iron(II) ions, iron(III) are formed which give a stable complex with oxalate and therefore substracting oxalate, reaction (1) causing the positive error, decreases.

We wish to deal particularly with the behaviour of the system hydrogen peroxide-oxalic acid. In this case relying on our previous experiences we consider the existence of an induced reaction as possible. As it is well known, cerium(IV)-ions oxidize hydrogen peroxide in the following two steps[2]:

$$H_2O_2 + Ce^{IV} \rightarrow HO_2 + Ce^{III} \quad (4)$$

$$HO_2 + Ce^{IV} \rightarrow O_2 + Ce^{III}. \quad (5)$$

Since the standard oxidation potentials of the couples HO_2/H_2O_2), HO_2/O_2 and $H_2C_2O_4/CO_2$ in the system dealt with are -1.5, 0.13 and 0.49 volt, theoretically it is possible that the HO_2 radical formed in reaction (4) is reduced by oxalic acid to H_2O_2, thus a positive error occurring. Nevertheless, in induced reactions of different peroxy compounds in which the radical HO_2 — according to our experiences — plays a decisive role, the halide ions exert a strong inhibiting effect. Iodide ions, which are especially active, present only in a few mg eliminate the error almost completely. Thus if the positive error has an induction origin it may be expected that iodide ion here also behaves as inhibitor. But according to our experiences iodide ions do not diminish the positive error, on the contrary, they cause a minimal increase. Bearing in mind all this we must say that in this system the reaction has no induction character but similarly to the other ones mentioned, the occurrence of a rather rapid competition reaction between oxalate and cerium(IV) is the source of the error.

Summary

It had been proved that the positive error occurring during cerimetric determination of some substances [e.g. iron(II)-ions, hydroquinone, indigo carmine etc.] in presence of oxalic acid is not of induction character

but may be ascribed to a rather rapid competing reaction between cerium(IV) and oxalate ions. Therefore any factor which decreases the rate of this latter reaction diminishes the positive error.

References

[1] Ardon, M., and G. Stein: J. chem. Soc. (London) **1956**, 104. — [2] Baer, Sh., and G. Stein: J. chem. Soc. (London) **1953**, 3176. — Baxendale, J. H.: J. chem. Soc. (London), Spec. Publ. No. **1**, 40 (1954). — [3] Csányi, L. J., and F. Solymosi: Acta Chim. Acad. Sci. Hung. **13**, 19 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **163**, 370 (1958). — [4] Dodson, V. H., and A. H. Black: J. Amer. chem. Soc. **79**, 3657 (1957). — [5] Duke, F. R.: J. Amer. chem. Soc. **69**, 2885 (1947). — [6] Rao G. Gopala, and P. Jagan Mohan: Z. analyt. Chem. **156**, 428 (1957). — [7] Rao G. Gopala, P. Jagan Mohan and M. N. Sastri: Z. analyt. Chem. **156**, 336 (1957). — [8] Rao G. Gopala, and N. Venkateswara Rao: Z. analyt. Chem. **157**, 85 (1957). — [9] Rao G. Gopala and T. P. Sastri: Z. analyt. Chem. **152**, 351 (1956). — [10] Ross, S. D., and C. G. Swain: J. Amer. chem. Soc. **69**, 1325 (1947).

Dr. L. J. Csányi, Szeged, Beloiannisz tér 7 (Hungary)

Note*

Sir: I have read with great interest the manuscript of the paper by Csányi and Szőke on this subject, which Csányi has kindly sent me in advance of publication. In a series of publications, Gopala Rao and coworkers have reported the interference of oxalic acid or some hydroxy carboxylic acids in the titration of hydroquinone and iron(II) with cerium(IV) sulphate and of oxalic acid in the titration of indigo sulphonate with cerium(IV) sulphate. In this connection, it is important to note that Pound[1] had earlier reported that oxalic acid does not interfere with the titration of iron(II) with cerium(IV) sulphate. It is gratifying to note that Csányi and Szőke have been able to confirm the experimental observations of Gopala Rao and coworkers in regard to the positive error caused by the interference of oxalic acid and some hydroxy carboxylic acids with titrations with cerium(IV) sulphate. Csányi and Szőke have also been able to ratify the interesting findings of Gopala Rao and collaborators that the addition of phosphoric acid or fluoride to the titration mixture considerably reduces the positive error.

In their publications, Gopala Rao and collaborators have tentatively suggested that the interference of oxalic acid is due to induced reaction, because some of the features of this interference show the characteristics of other induced reactions encountered in volumetric titrations. While offering this tentative suggestion, Gopala Rao and coworkers were fully aware of the difficulty that in cerium(IV) sulphate titrations there are no possible intermediate valence states of the metal. I am very happy to note that Csányi and Szőke have now offered an alternate explanation for the experimental observations of Gopala Rao and coworkers. Csányi and Szőke believe that the observed positive error in the presence of oxalic acid "is not of induction character but may be ascribed to a rather rapid competition reaction between cerium(IV) and oxalate ions". Csányi and Szőke have presented evidence to show that the reaction between oxalic acid and cerium(IV) sulphate is rapid enough, "about 90% of the reaction being completed in about 1 to 1.3 minutes", when cerium(IV) sulphate and oxalic acid solutions are mixed in bulk. Pandu-ranga Rao and Gopala Rao[2] have already recognised that the reaction between

* See Csányi, L. J. and F. Szőke: Z. analyt. Chem. **175**, 187 (1960).

cerium(IV) and oxalate ions in hydrochloric acid solution is indeed much faster than what has even been presumed by Csányi and Szőke and this reaction is strongly inhibited by sulphate ions. They have reported that the titration of oxalic acid is possible in hydrochloric medium at the room temperature with cerium(IV) sulphate, using ferroin as indicator provided the sulphate ion is removed from the solution as barium sulphate. Panduranga Rao and Gopala Rao[2] have also made the interesting observation that the reaction between the oxidised ferroin and oxalic acid is slow and retarded markedly by the sulphate ion, but induced by cerium(IV). In conclusion, I believe that the explanation offered by Csányi and Szőke for the experimental observations of Gopala Rao and collaborators is more plausible. A final solution of the problem is, however, possible only through a study of the relative kinetics of the cerium(IV)-iron(II) and cerium(IV)-oxalic acid reactions in sulphuric acid medium. I consider that the results reported by Csányi and Szőke on the reaction of cerium(IV)-perchlorate are not relevant to the issue. It is already known from the work of Smith and coworkers that the reaction between cerium(IV) perchlorate and oxalate is very fast.

References

[1] Pound, J. R.: Chem. Engng. Mining Rev. **32**, 418 (1940). — [2] Rao, V. Panduranga, and G. Gopala Rao: Talanta **2**, 370 (1959).

Prof. G. Gopala Rao, D. Sc. Andhra University, Waltair, India

(Received January 15, 1960)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Über die Analyse technischer Formaldehydlösungen durch kombinierte Messungen der Dielektrizitätskonstanten und der Dichte berichtet F. Oehme[1]. Verf. gibt ein Dreiecksdiagramm an, mit dessen Hilfe aus Dielektrizitätskonstante und Dichte sofort der Methanol- und Formaldehydgehalt entnommen werden kann. Bei methanolfreien Lösungen genügt die Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten, um aus einer Eichgeraden den Formaldehydwert zu ermitteln.

[1] Kunststoffe **49**, 226—227 (1959). Inst. z. Entwicklung moderner chem.-physik. Analysenmethoden, Weilheim/Obb. H. Garschagen

Polarographische Bestimmung von Nitrilotriessigsäure in Äthylendinitrilotetraessigsäure. R. L. Daniel und R. B. LeBlanc[1] haben festgestellt, daß sich die Stabilitäten der Cadmiumchelate der Nitrilotriessigsäure (NTE) und der Äthylendinitrilotetraessigsäure (ÄDTE) in der polarographischen Reduzierbarkeit so stark unterscheiden, daß NTE neben ÄDTE polarographisch analysiert werden kann. In 0,1 m KNO_3-Lösung von p_H 10 liegen die Halbstufenpotentiale der Cd-Chelate für NTE bei −0,97, für ÄDTE bei −1,4 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode. — *Vorschrift.* Die Probe muß derart bemessen sein, daß eine 10^{-3} bis 10^{-5} m Lösung der

Chelate entsteht. Bei einem Gehalt von 0,1—3% NTE in der Probe werden 5 g zunächst in 75 ml Wasser aufgenommen und die Lösung wird mit 1 m Salpetersäure oder 1 m Kalilauge auf den p_H-Wert 10 eingestellt. Unter Kontrolle und Nachstellen des p_H-Wertes wird dann tropfenweise 1 m Cadmiumnitratlösung zugesetzt bis 1 Tr. eine p_H-Änderung von höchstens 0,1 verursacht. Dann werden noch 1—2 Tr. Cd-Lösung zugefügt, es wird der p_H-Wert auf 10 gebracht (geringe Trübung durch Cd-Hydroxyd) und schließlich wird auf 100 ml aufgefüllt. 10 ml dieser Lösung werden zusammen mit 10 ml 1 m KNO_3-Lösung auf 100 ml aufgefüllt und von —0,4 bis —1,3 V polarographiert. Ausgewertet wird mit Hilfe von Eichpolarogrammen. Die Stufenhöhe ist im Bereich 10^{-5} bis 10^{-3} m Lösungen der Konzentration linear proportional. Der Fehler der Analyse liegt bei ± 5%, d. h. bei 0,03% des Ausgangsgehaltes.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1221—1223 (1959). Dow Chemical Co., Freeport, Tex. (USA). K. Cruse

Phthalsäure in den Oxydationsprodukten von Naphthalin läßt sich nach W. P. Fassinger und C. E. Gonter[1] nach vorheriger Abtrennung spektralphotometrisch bei 274 nm bestimmen. — *Ausführung.* Die 10—15 mg Phthalsäure enthaltende Lösung wird in ein 250 ml-Becherglas gegeben, auf ungefähr 20 ml mit dest. Wasser aufgefüllt und nach Zusatz von Phenolphthalein als Indicator mit 0,35 n carbonatfreier Bariumhydroxydlösung bis zur Rosafärbung titriert. Nachdem 10 ml 0,01 m Bariumchloridlösung zugefügt worden sind, läßt man unter Rühren 100 ml absol. Äthylalkohol einfließen. Nach 1stündigem Stehenlassen wird das niedergeschlagene Bariumphthalat filtriert, mit Alkohol nachgewaschen und der filtrierte Niederschlag mit warmer verd. Salzsäure (1 ml konz. Salzsäure auf 10 ml mit dest. Wasser aufgefüllt) in eine saubere Saugflasche gelöst. Die saure Lösung wird quantitativ in einen 250 ml-Meßkolben gebracht und mit verd. Salzsäure gleicher Konzentration aufgefüllt. Die Extinktion E wird spektralphotometrisch bei 274 nm bestimmt und läßt sich nach der Gleichung: Konz. (Gramm/Liter) an Phthalsäure = 7,72 E/Schichtdicke der Küvette in die Mengen anwesender Phthalsäure umrechnen. Nach der obigen Vorschrift wird das sonst bei spektralphotometrischen Phthalsäurebestimmungen störende 1,4-Naphthochinon nicht ausgefällt und stört nicht die Bestimmung. Genauigkeit der Bestimmung ± 1,5%.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1324—1326 (1959). Pittsburgh Coke & Chem. Co., Neville Island, Pittsburgh, Pa. (USA). E. Bayer

Die photometrische Bestimmung von Naphthalin und 1,4-Naphthochinon in Rohprodukten von technischem Phthalanhydrid untersucht H. Peters[1]. Mittels reiner Substanzen werden die UV-Spektren in CH_3OH, CCl_4 und Dioxan gemessen und festgestellt, daß sich die Spektren von Phthalanhydrid und von Naphthochinon beim Stehenlassen an Licht innerhalb weniger Stunden verändern. Tageslicht sollte deshalb bei der Bestimmung ausgeschlossen werden, da sonst keine zuverlässigen, reproduzierbaren Werte erhalten werden können. Man arbeitet im Dunkelraum bei Rotlicht: Die abgewogene Menge rohen Phthalanhydrids wird in Methanol gelöst, filtriert, im Meßkolben aufgefüllt und die Extinktion bei 347 nm im Maximum des 1,4-Naphthochinons, spektralphotometrisch gemessen. Nachdem die Probe 17 Std im Dunkeln gestanden hat, mißt man die Extinktion bei 311 nm. — Die Konzentration an Naphthochinon (C_{NQ}) bzw. Naphthalin (C_N) in Gramm/Liter berechnen sich aus den Extinktionen bei 311 nm (E_{311}) und 347 nm (E_{347}) nach folgenden Gleichungen: $C_{NQ} = E_{347}/14{,}79\,d$; $C_N = E_{311}/d - 12{,}45\,C_{NQ} - 0{,}0015\,C_{PA})/1{,}95$ (d = Schichtdicke der Küvette in Zentimetern; C_{PA} = Konzentration an Phthalanhydrid). — Die Genauigkeit der Bestimmung ist ungefähr ± 1%. — Bei

naphthalinfreien, destillierten Phthalanhydriden wird nach obiger Methode allerdings auch ein Naphthalingehalt von 1% erhalten. Untersuchungen über die möglichen Fehlerquellen werden in Aussicht gestellt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1326—1331 (1959). Reichhold Chemie AG, Hamburg.
E. Bayer

Die Bestimmung kleiner Mengen α-Picolin (bis zu 2%) in Pyridin gelingt nach K. A. Adey und J. D. Cox[1] durch Messung der unteren Auflösungstemperatur einer Mischung, welche die beiden Basen, Wasser und Kaliumchlorid in festgelegten Verhältnissen enthält. Die Methode, welche auf der unterschiedlichen Löslichkeit von Pyridin und α-Picolin in 20%iger Kaliumchloridlösung basiert, liefert nur bei Abwesenheit aller anderen Verbindungen (außer Wasser) richtige Resultate. Die Auflösungstemperatur einer Mischung von 25% reinem Pyridin und 75% 20%iger (g/v) Kaliumchloridlösung beträgt 27,0° C. Gegenwart von 1% α-Picolin in Pyridin erniedrigt die Auflösungstemperatur auf 26,3° C. — *Arbeitsweise.* In das innere Prüfrohr einer geeigneten Apparatur[2] werden 4,99—5,01 g des zu untersuchenden Pyridins und 14,95—15,05 g Kaliumchlorid (200,00 g reinstes, bei 110° C getrocknetes Kaliumchlorid werden im geeichten 1 l-Meßkolben bei 20° C mit Wasser zur Marke aufgefüllt) genau abgewogen. Das Gefäß wird mit Stopfen, Thermometer und Rührer versehen und unter lebhaftem Rühren auf eine Temperatur von 25° C gebracht. Die Wasserbadtemperatur wird inzwischen auf 27,8 ± 0,2° C eingestellt und das innere Prüfrohr eingesetzt. Unter dauerndem Rühren beobachtet man den Temperaturanstieg der Lösung und stellt den Punkt fest, bei welchem die klare Lösung plötzlich eine weiße Opalescenz ausbildet. Zur Kontrolle kühlt man, ohne Thermometer und Rührer zu entfernen, auf 25° C ab und erwärmt wieder, bis die Lösung trübe wird. Die Auflösungstemperatur kann etwa auf ± 0,02° C genau ermittelt werden. — Wenn man mit einem anderen Teil der Pyridinprobe eine Wasserbestimmung nach K. Fischer durchgeführt hat, wird die abgelesene Temperatur wie folgt korrigiert: 1. Falls erforderlich, bringt man eine Thermometerkorrektur an. 2. Der genaue Prozentgehalt der Probeneinwaage in der Gesamtmischung wird errechnet und für jede 0,01% Abweichung von 25,00% wird 0,015° C zugezählt oder subtrahiert, je nachdem die Einwaage 25,00% über- oder unterschreitet. 3. Für je 0,01% Wasser werden 0,0085° C abgezogen. Subtrahiert man die so ermittelte korrigierte Temperatur von 27,0 und dividiert diesen Wert durch 0,7, so erhält man den Prozentgehalt an α-Picolin. — Die Genauigkeit der Methode beträgt etwa 0,1%.

[1] Analyst **84**, 414—417 (1959). Midland Tar Distillers Ltd., Four Ashes, nr. Wolverhampton u. National Chem. Lab., Teddington, Middlesex. — [2] Standardisation of Tar Products Tests Committee "Standard Methods for Testing Tar and its Products", 4. Edition, Gomersal Leeds, 1957, S. 321. H. Garschagen

Bei der spektrochemischen Analyse von Pflanzenmaterialien benutzen J. Connor und S. T. Bass[1] zur Anregung eine Hochspannungsfunkenentladung eines National Spectrographic Laboratories Spec Power Funkenerzeugers, der durch eine Tandem-Funkenstrecke gesteuert wird. Die Verff. wählen Entladungsparameter aus, die bei möglichst niedrigem kontinuierlichem Untergrund die höchste Konstanz der Durchbruchsspannung liefern. Als günstige Parameter finden sie: 235 V Eingangsspannung, Leistungsstufe 9 mit etwa 2,5 kVA, Kapazität 0,01 μF, Selbstinduktion 50 μH, Widerstand 0 Ω, Abstand der Tandem-Luftfunkenstrecke 4 mm. Zur Probenaufnahme werden Graphitbecherelektroden von 6,25 mm äußerem ⌀ mit einer 5 mm tiefen Bohrung von 5 mm ⌀ verwendet, die mit Graphitpulver (200 mesh), das in Königswasser gewaschen und aktiviert, in Wasser nachgewaschen und bei 500° C getrocknet worden ist, gefüllt werden und auf die die

Probenlösung aufgetropft wird. Danach werden die präparierten Elektroden auf 450° C aufgeheizt und bei 120° C bis zum Abfunken im Trockenofen gehalten. Zu den Probenlösungen wird Kobalt als Bezugselement zugegeben. Die Verff. benutzen einen Quarz-Glas-Littrow-Spektrographen von Hilger bei 25 μ Spaltbreite und analysieren folgende Elemente in den angegebenen Konzentrationsbereichen B 2498 Å (10—100 ppm), P 2536 Å (0,07—0,7%), Fe 2599 Å (50 bis 500 ppm), Mg 2781 Å (0,07—0,7%), Mn 2949 Å (20—200 ppm), Ca 3006 Å (0,4 bis 4%) und Cu 3274 Å (10—100 ppm). Die Verff. untersuchen außerdem den Einfluß verschiedener Kaliumgehalte zwischen 1,8 und 3,2% auf die Calcium- und Phosphorbestimmung mit der ausgewählten Anregung. Calcium wird nicht beeinflußt und eine Störung der Phosphorbestimmung kann nicht eindeutig gezeigt werden.

[1] J. Ass. off. agric. Chem. **42**, 382—385 (1959). Dept. Agric. Chem., State Univ., East Lansing Mich. (USA). F. Rosendahl

Die Bestimmung von Griseofulvin und seinen Derivaten in Pflanzengeweben führen S. H. Crowdy, A. P. Green, J. F. Grove, P. McCloskey und A. Morrison[1] nach den von Crowdy und Mitarb.[2] ausgearbeiteten Methoden durch. Die Wurzeln und Schoten der vorbehandelten Pflanzen werden extrahiert, die Extrakte der Gegenstromverteilung unterworfen und die Fraktionen nach weiterer chromatographischer Reinigung spektrophotometrisch untersucht. Nachgewiesen wurden *Id-7-Chlor-4,6,2′-trimethoxy-6′-methylgris-2′-en-3,4′-dion, 4,6,2′-Trimethoxy-6′-methylgris-2′-en-3,4′-dion, 7-Chlor-4,6,4′-trimethoxy-6′-methylgris-3′-en-3,2′-dion, 7-Chlor-4,6-dimethoxy-6′-methyl-2′-n-propoxygris-2′-en-3,4′-dion, 2′-n-Butoxy-7-chlor-4,6-dimethoxy-6′methylgris-2′-en-3,4′-dion, 7-Chlor-6,2′-diäthoxy-4-methoxy-6′-methylgris-2′-en-3,4′-dion, 7-Chlor-4′,6′-dihydroxy-4,6-dimethoxy-2′-methylgrisan-3-on, 7-Chlor-6′-hydroxy-4,6-dimethoxy-2′-methylgrisan-3-on, 7-Chlor-4,6-di-methoxy-2′-methylgrisan-3,4′,6′-trion, 2′-Amino-7-chlor-4,6-dimethoxy-6′-methyl-gris-2′-en-3,4′-dion* und *Grisan-3,4′-dion*. Ein Spaltprodukt der Substanzen konnte nachgewiesen, aber nicht identifiziert werden.

[1] Biochemic. J. **72**, 230—241 (1959). Imp. Chem. Ind. Ltd., Akers Res. Labor., Welwyn, Herts. — [2] Crowdy, S. H., D. Gardner, J. F. Grove u. D. Pramer: J. exp. Bot. **6**, 371 (1955). — Crowdy, S. H., J. F. Grove, H. G. Hemming u. K. C. Robinson: J. exp. Bot. **7**, 42 (1956). Ursula Baumann

Zur spektrochemischen Spurenbestimmung in Pflanzen haben A. Strasheim, D. J. Eve und R. M. Fourie[1] eine von A. Stetter und H. Exler[2] angegebene Anreicherungsmethode mit Natrium-Pyrrolidindithiocarbaminat angewendet und können bei Verwendung von Zinn als Referenzelement in den angegebenen Konzentrationsbereichen folgende Elemente bestimmen: *Blei* (0,3—10 ppm), *Vanadium* (0,3—3 ppm), *Molybdän* (0,05—3 ppm), *Mangan* (3—150 ppm), *Zink* (5—100 ppm), *Kobalt* (0,05 -20 ppm) und *Nickel* (0,2 -10 ppm). Die Verff. zeigen, daß die Blei-, Nickel- und Molybdänanalyse von wechselnden Eisengehalten zwischen 0 und 10% beeinflußt werden und empfehlen, die Eisenlinie 2990,39 Å mit auszumessen, um einen Anhalt für die Eisenkonzentration zu bekommen. Da die Eichkurven dieser Elemente bei Variation des Eisengehaltes parallel verschoben werden, kann dann jeweils aus einer Kurve ein Korrekturfaktor abgelesen werden. Die Verff. geben an, daß die Streuung des Verfahrens zwischen $\sim$ 10 und 20% relativ liegt.

[1] J. South African chem. Inst. **12**, 75—80 (1959). South African Council Sci. Ind. Res., Pretoria (Südafrika). — [2] Naturwissenschaften **42**, 45 (1955); vgl. diese Z. **155**, 58 (1957). F. Rosendahl

Den Nachweis von Konservierungsmitteln in Holz beschreibt W. J. Wilson[1]. Die untersuchten Holzkonservierungsmittel waren Gemische, die Zink, Kupfer, Chrom und Arsenat bzw. Fluorid, Chrom, Arsenat und Phenol bzw. saures Kupferchromat mit oder ohne Borsäure bzw. Borsäure und Borax enthielten. Als Reagens wird eine 0,1%ige wäßrige Lösung von *Brenzcatechinviolett* empfohlen, der vor Gebrauch 5% Ammoniumacetat zugesetzt werden. Behandelt man das Holz mit dieser Lösung, so entstehen bei Anwesenheit von BO_3^{3-}, Zn^{2+} rote bis rotbraune, Cu^{2+}, Cr^{6+} tiefblaue Anfärbungen, während unbehandeltes Holz mit dem Reagens gelb wird. Da Fluorid und Arsenat die Ausbildung des blauen Zirkoniumkomplexes des Brenzcatechinvioletts hemmen, kann man diese Ionen an der roten Farbe erkennen, welche beim Behandeln mit einer Lösung von 0,05% Brenzcatechinviolett und 0,05% Zirkoniumoxychlorid in 0,1 n Salzsäure entsteht.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 150—154 (1959). Forest Res. Inst., P. B. Whakarewarewa, Rotorua (Neu-Seeland). E. Bayer

Mikrogrammengen Methylcelluloselösung lassen sich colorimetrisch bei 640 nm nach Umsetzung mit Diphenylamin bestimmen, wie G. Kanzaki und E. Y. Berger[1] mitteilen. — *Arbeitsweise.* In einem Reagensglas (1,8×20 cm) gibt man zu 5 ml Diphenylaminreagens, das man durch Lösen von 3,75 g farblosem Diphenylamin in 150 ml Eisessig und Zugabe von 90 ml Salzsäure (D 1,18) herstellt, 2 ml Lösung mit 40—160 µg Methylcellulose, schüttelt gut durch, schließt mit einer Glaskugel und erhitzt 30 min im Ölbad bei 108 ± 0,1° C. Danach werden die Reagensgläser mit kaltem Wasser 10 min abgekühlt, und die Extinktion wird bei 640 nm gegen eine Blindprobe colorimetrisch gemessen. Aus einer auf gleiche Weise erhaltenen Eichkurve lassen sich die Konzentrationen berechnen. Die Extinktion gehorcht dem Lambert-Beerschen Gesetz. Proteine stören und müssen vorher durch Zusatz von 1 ml 10% Zinksulfat-heptahydrat-Lösung in 0,25 n Schwefelsäure abgetrennt werden. Nach Zugabe von 1 ml 0,75 n Natronlauge fallen danach die Proteine aus und werden abzentrifugiert. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt ± 2%.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1383—1385 (1959). Goldwater Memorial Hosp., Welfare Island, New York, N. Y. (USA). E. Bayer

Die Untersuchung eines Druckvergasungsteeres aus südafrikanischer Steinkohle, speziell die Untersuchung einzelner Fraktionen der Neutralöle, unter Anwendung neuer Verfahrensweisen beschreiben E. Terres und H. H. Hahn[1]. Im einzelnen wird beschrieben: a) Die Untersuchung der Fraktionen mit niedrigen Brechungsindices durch Fällung mit Harnstoff und Thioharnstoff und Zerlegung der aus den Addukten freigesetzten Kohlenwasserstoffe auf chromatographischem Wege; b) Teiluntersuchung einiger niedrig siedender Fraktionen (Benzol-, Heptanfraktion); c) Untersuchung der Begleitsubstanzen des Naphthalins; d) Untersuchung der Monomethylnaphthalinfraktionen; e) Untersuchung der Biphenylenoxydfraktion; f) Heißchromatogramm der Anthracen- und Fluoranthenfraktion. Zur Ausführung der Untersuchungen wurden flüssig-flüssig-chromatographische, gaschromatographische und infrarotspektroskopische Methoden herangezogen.

[1] Erdöl u. Kohle **12**, 823—829 (1959). Bailey's Muckleneuk, Pretoria (Südafrika). D. Jentzsch

Zur Analyse von Erdölprodukten im Bereich von C_{12} bis C_{20} schlagen G. L. Kfarns, N. C. Maranovski und G. F. Crable[1] die Kombination der Fluorescenz-Indicator-Adsorption mit der Niedervolt-Massenspektrometrie vor. Die Probe wird auf eine Silicagelkolonne gegeben und mit Isopropanol entwickelt. Mit Hilfe von Ultraviolettlicht werden die farblosen *Paraffine* und die verschieden gefärbten

Aromaten und *Olefine* getrennt und in 3 Fraktionen aufgefangen. Jede Fraktion wird getrennt dem Niedervolt-Massenspektrometer zugeführt. Die Standardeinstellung des Instruments ist: Einlaßsystem 175° C, Ziehspannung 1,5 V, Ionisierungsspannung 8,0 V. Bei diesen Bedingungen treten nur Bruchstücke von Molekülionen über m/e = 100 auf. Um stärkere Ionenströme zu erhalten, werden 4,6 μl Substanz auf 2 l Volumen des Probegefäßes gegeben, 5mal mehr als normal üblich. Das Probenvolumen war auf 3% reproduzierbar. Zur Kalibrierung werden vornehmlich *Alkylbenzole* verwendet, in geringem Umfange *Naphthaline*, ferner *Anthracen*, *Indan*, *Inden*, *Acenaphthen* und *Acenaphthylen*. Gewisse Typen gleicher Summenformel wie Anthracen und Phenanthren, Diolefine und Cyclomonoolefine, Inden und Dihydro-naphthalin, Indan und Tetralin können nicht als getrennte Typen unterschieden werden. — Das Verfahren wird zur Untersuchung von *Düsenkraftstoff*, *Petroleum*, *Dieselöl* und *Heizöl* empfohlen. Analysen mehrerer *Mittelöle* verschiedener Provenienz und Verwendung werden mitgeteilt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1646—1651 (1959). Sulf Res. & Develop. Co, Pittsburgh, Pa. (USA). J. Rasch

Die radiometrische Absorptionsanalyse hat L. Wiesner[1] zur *Bestimmung von Wasserstoff, Sauerstoff, Phosphor, Schwefel, Chlor, Jod und Blei in organischen Substanzen*, außerdem in *technischen Produkten (Dieselkraftstoffen, Heizölen und Benzinen)* verwendet. Der Verf. hat die bisherigen Methoden durch Anwendung eines Methandurchflußzählers als Strahlendetektor mit seiner bekannt sehr kleinen Totzeit von etwa 1 μsec empfindlicher gestaltet. Der Zähler besitzt eine mechanisch sehr stabile, mit Gold bedampfte Mylarfolie als Endfenster. Als Strahlenquellen hat der Verf. ^{55}Fe, ^{3}H, ^{109}Cd und ^{90}Sr/^{90}Y benutzt. Das Analysenverfahren beruht auf der verschieden starken Absorption der Strahlung durch einzelne zu bestimmende Elemente in den Proben. Es können mehrere Elemente nebeneinander bestimmt werden, weil die Absorptionsmessung mit Strahlungsarten verschiedener Energie durchgeführt wird. Eine aus $n + 1$ Elementen aufgebaute Probe kann mit n verschiedenen Strahlungsabsorptionsmessungen analysiert werden. Die Herstellung der Eichkurven und die Durchführung der Analysen sind im Original sehr ausführlich beschrieben. Der Verf. weist darauf hin, daß die Anschaffung einer derartigen Meßanordnung 7000 bis 10000 DM kostet, die Apparatur sich nach etwa 3 Jahren bei 1000 Doppelbestimmungen im Jahr amortisiert und die Kapazität der Meßeinrichtung dann trotzdem nur zu 15% ausgenutzt ist.

[1] Brennstoff-Chem. **40**, 273—278 (1959). Inst. f. Erdölforschg., Hannover. Klaus Brodersen

Einen Chromatographen (ChPA-I) für die automatische Analyse von Kohlenwasserstoffen beschreiben A. I. Tarasov, N. A. Kudrjavceva, A. V. Ioganson und N. I. Lulova[1]. Als Detektor der getrennten Gase dient eine Wärmeleitfähigkeitsmeßzelle, die mit einer Registriervorrichtung verbunden ist. Die Trennsäulen können falls erforderlich ausgewechselt werden. Ein modifiziertes Adsorbens, das sich für die Trennung der Kohlenwasserstoffe C_1—C_5 und ihrer Isomeren als geeignet zeigte, wird angewandt. Die Konzentrationsermittlung erfolgt auf Grund der Bandenhöhe. Der Proportionalitätsfaktor wird mittels einer gleichzeitigen Messung der Bandenfläche bestimmt. Bei der Arbeit mit Wasserstoff als Trägergas wird angenommen, daß das Verhältnis der Bandenflächen dem Konzentrationsverhältnis gleich ist. Bei der Anwendung von Stickstoff als Trägergas wurden die Koeffizienten mit Hilfe einer handelsüblichen Apparatur bestimmt. Die Meßresultate mit beiden Geräten sind in guter Übereinstimmung. Erzielbare Ergebnisse: Mit den 4—6 m langen Säulen (Durchmesser 6 mm), bei der Temperatur 40—20° C und der Durchflußgeschwindigkeit des Trägergases 2—8 l/Std werden die Kohlenwasserstoffe

C_1—C_4 (10—11 Komponenten) in 16—17 min, und die Kohlenwasserstoffe C_1—C_5 (17—18 Komponenten) in 15—50 min getrennt. Äthan und Äthylen lassen sich nicht trennen.

[1] Zavodskaja Laborat. **25**, 803—806 (1959) [Russisch]. Allunionsinst. f. Erdölverarb. (UdSSR). Damjana Vukanović

Zur Bestimmung der „Sulfochloridzahl" in sulfochlorierten Kohlenwasserstoffen empfiehlt Ju. M. Volkov[1] folgendes *Verfahren.* 1—1,5 g der mit Inertgas durchblasenen Probe werden schnell in einen Schliffkolben eingewogen und in 50 ml Aceton-Äther (1:3) gelöst. Man versetzt mit einigen Tropfen Kresolrotlösung und titriert mit 0,1 n alkoholischer Kalilauge bis zum Auftreten einer 10—15 sec beständigen Rosafärbung. Dann versetzt man die Lösung noch einmal mit der gleichen Menge der Lauge im Überschuß, beläßt 2 Std bei Zimmertemperatur, titriert mit 0,1 n Salzsäure bis zum Indicatorumschlag von Purpurrot nach Bernsteingelb (Verbrauch *a* Milliliter) und titriert mit 0,1 n alkoholischer Kalilauge erneut nach Purpurrot zurück (Verbrauch *b* Milliliter). Ein Blindwert wird mit der gleichen Menge Kalilauge angesetzt und mit 0,1 n Salzsäure titriert (Verbrauch *c* Milliliter). Die „Sulfochloridzahl" (Milligramm KOH/g Einwaage) berechnet sich dann zu: Sulf.-Zahl $= (c - a + b) \cdot 5{,}61/E$ (E ist die Einwaage in Gramm). Die Genauigkeit der Methode beträgt 97—97,5%, die Reproduzierbarkeit 98—99%.

[1] Ž. anal. Chim. **14**, 639 (1959) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Ukr. wiss. Forsch.-Inst. f. Kohlechemie, Charkov, (Ukrain. SSR) H. Wunderlich

Über den papierchromatographischen Nachweis von 3,4-Benzpyren im Rauchkammerruß berichten J. Kolšek, M. Perpar und M. Žitko[1]. Zum Nachweis und zur Bestimmung des carcinogenen 3,4-Benzpyren wurde der Ruß aus Fleischwarenrauchkammern, die mit Buchenhölz beheizt waren, im Soxhletapparat extrahiert. Der Extrakt wurde mit alkoholischer Kalilauge verseift, wobei der unverseifbare Rückstand im Benzol zurückblieb. Nach dem Einengen bis zur Trockne wurde der Rückstand nach Lösung in Cyclohexan papierchromatographisch untersucht. Benutzt wurde acetyliertes Papier (Schl. & Sch. Nr. 2043b), während als mobile Phase Methanol-Chloroform (3:1) diente. Es wurde absteigend gearbeitet, mit einer Laufzeit von etwa 48 Std. Durch UV-Fluorescenz wurden 10 Komponenten nachgewiesen, wobei durch Benutzung von 3,4-Benzpyren als Parallelsubstanz eine Komponente als 3,4-Benzpyren identifiziert werden konnte. Zur Kontrolle wurde der Fleck ausgeschnitten, mit Äthanol eluiert und das UV-Spektrum aufgenommen. Es entsprach dem des 3,4-Benzpyrens. An Hand der R_f-Werte konnte eine Verwechslung mit 1,12-Benzperylen, das ein ähnliches UV-Absorptionsspektrum zeigt, ausgeschlossen werden. Zur quantitativen Bestimmung wurden die UV-Maxima bei 350, 365 und 385 nm herangezogen. Die im Rauchkammerruß bestimmte Menge 3,4-Benzpyren beläuft sich auf $1{,}9 \cdot 10^{-3}$%. In den geräucherten Fleischwaren ließ sich kein 3,4-Benzpyren nachweisen.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 299—302. Univ. Ljubljana (Jugoslawien).
H. Zimmer

Zur polarographischen Bestimmung von 1,2-Diaminocyclohexan (DCH) in Hexamethylendiamin (HMD), die bei der Nylon-66-Fabrikation von Bedeutung ist, wird nach M. E. Hall[1] zweckmäßig die polarographische Bestimmung des DCH-Nickelkomplexes verwendet. — *Vorschrift.* Die Probemenge wird so bemessen, daß bei einem Gehalt unter 500 ppm DCH etwa 1 g, unter keinen Umständen mehr als 3—4 g HMD verwendet wird. Man versetzt mit 10 ml Wasser und 1 ml 2%iger $NiCl_2 \cdot 6H_2O$-Lösung und füllt auf 25 ml auf. Nach Durchmischen wird zentrifugiert und die notwendige Menge der klaren Lösung zur

Polarographie entnommen (t = 4,57 sec, m = 1,67 mg/sec bei −1,25 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode, 64 cm Hg-Säule). Nach Entfernen des Sauerstoffs wird von −0,7 bis −1,3 V polarographiert. Das Polarogramm wird mit Eichaufnahmen verglichen, zu deren Herstellung das Salz des DCH mit Benzoesäure verwendet wird. — Der Standardfehler der Analyse liegt bei ± 5% für 0,3—1,0 mg je 25 ml und steigt bei geringerem Gehalt auf ± 10%. Aminomethylcyclopentylamin stört die Bestimmung.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1219—1221 (1959). Chemstrand Corp., Decatur, Ala. (USA). K. Cruse

Den papierchromatographischen Nachweis grenzflächenaktiver Stoffe nehmen H. P. Kaufmann und G. Walther[1] mit Hilfe der Transparenz-Methode vor. Dabei setzen die grenzflächenaktiven Stoffe die Oberflächenspannung des mit Paraffin imprägnierten Papiers so herab, daß an den entsprechenden Stellen, wo diese sich nach der chromatographischen Entwicklung befinden, das Papier wieder benetzbar wird. Zur Hydrophobierung bewährt sich ein festes Paraffin vom FP 68 bis 72° C. Nach der Entwicklung des Chromatogramms mit einem Methanol-Wasser-Äthylacetat-Gemisch als mobiler Phase und Trocknung wird das Papier mit Wasser besprüht bzw. kurz darin eingetaucht. Nach kurzer Zeit erscheinen an den Stellen, an denen sich oberflächenaktive Stoffe befinden, im durchfallenden Licht helle Flecke auf dem dunkleren Papieruntergrund. Die Nachweisgrenze liegt bei 2 bis 3 μg. Die Flecken verblassen nach einiger Zeit infolge Austrocknung, können aber durch erneutes Anfeuchten mehrfach wieder hervorgerufen werden. Eine beständige Anfärbung läßt sich durch einseitiges Besprühen des Papiers mit einer wäßrigen Farbstofflösung erzielen, wobei der Farbstoff zusammen mit dem Wasser in das Papier eindringt und auf der Gegenseite in Form farbiger Flecke auf weißem Grund erscheint. Als Beispiel werden die *Trennung von Saccharose-Fettsäureestern* und die Trennung von *Fettalkohol-Polyglykoläthern* durchgeführt.

[1] Fette u. Seifen **61**, 782—784 (1959). Johanna Sepp

Die photometrische Trübungstitration von Alkylarylsulfonaten und Sulfobernsteinsäureester beschreibt R. Wickbold[1]. Anionenaktive Substanzen reagieren mit wäßriger *Cetylpyridiniumchloridlösung* unter Bildung einer 1:1-Verbindung, die in Wasser unlöslich, im Überschuß des Titriermittels jedoch löslich ist. Im Äquivalenzpunkt tritt deshalb eine maximale Trübung auf, die photometrisch verfolgt werden kann. Das Maximum ist äußerst scharf. Diese Art der maßanalytischen Bestimmung kann nicht für alle anionenaktive Verbindungen angewendet werden. Alkylsulfonate geben keine, Fettalkoholsulfonate nur eine schwache, nicht auswertbare Trübung. Organische, mit Wasser mischbare Lösungsmittel dürfen nicht anwesend sein. Sie können vor der Bestimmung durch Abdampfen entfernt werden. Nichtionogene waschaktive Substanzen verhindern das Ausfallen der Verbindung. Der p_H-Wert kann von 2,7—12 variieren. Größere Mengen von Neutralsalzen ergeben zu geringen Verbrauch an Maßlösung und müssen vermieden oder berücksichtigt werden. In 1 Std können 30 Titrationen in einem eigens dafür entwickelten Serientitriergerät mit Mikrokolbenbürette (3 ml, Unterteilung 0,001 ml) und Scheibenrührer aus Glas oder V2A ausgeführt werden. Ein Magnetrührer ist nicht zweckmäßig, da dabei ein Luftkegel in den Strahlengang geraten kann. — *Arbeitsweise.* Die pastöse Substanz wird durch Zuwägen von Wasser auf einen Gehalt von 10—12% verdünnt. 200—300 mg der homogenen Lösung werden in ein Wägeschälchen eingewogen und mit diesem in ein 100 ml-Becherglas gegeben. Man fügt 80 ml Wasser zu, setzt das Becherglas in das Titriergerät ein, stellt den Scheibenrührer so ein, daß er oberhalb des Strahlenganges rührt und setzt die Bürettenspitze 1 cm tief ein. Man titriert mit etwa

0,04 n Maßlösung (14,4 g bei 90° C in 500 ml Wasser gelöst und auf 1 l aufgefüllt), die gegen bekannte Alkylarylsulfonatlösung eingestellt ist, schnell bis nahe an den Endpunkt und dann in Zugaben von je 2 μl. Die Zugabe, die die Zeigerbewegung des Galvanometers rückläufig werden läßt, wird abgezogen. Vor der nächsten Bestimmung brauchen Bürettenspitze und Rührer nicht abgespült zu werden.

[1] Seifen, Öle, Fette, Wachse **85**, 415—416 (1959). MARGOT ZIMMERMANN

Die Brauchbarkeit der Absorptionsspektralanalyse zur Identifizierung sehr kleiner Farbstoffmengen auf Geweben zeigt J. DERKOSCH[1] an einem Beispiel. Es sollte geprüft werden, ob kleine Farbflecken (in weniger als Stecknadelkopfgröße) auf einem weißen Leinengewebe von gebläuten Federn herrührten, mit denen das Gewebe in Berührung gewesen war. Sowohl die Federn als auch das Gewebe wurden mit Alkohol bei Zimmertemperatur extrahiert. Von den erhaltenen, sehr verdünnten Farbstofflösungen wurden die Farbkurven mit dem Beckman-Spektralphotometer DU im Bereich von 320—800 nm aufgenommen und mit den Farbkurven der in Betracht kommenden Farbstoffe (Viktoriablau, Methylenblau Ia D und Methylviolett BB extra) verglichen. Die Auswertung der Kurven ergab eindeutig, daß ein (1:1)-Gemisch der Farbstoffe Viktoriablau und Methylviolett sowohl auf den Federn als auch auf dem Leinengewebe vorlag.

[1] Melliand Textilber. **40**, 1194—1196 (1959). II. Chem. Inst. Univ. Wien (Österreich). A. KURTENACKER

Einheitliche Untersuchungsmethoden für Puder und Puderbestandteile beabsichtigt ein „Puder-Ausschuß" der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) auszuarbeiten. In der vorliegenden ersten Mitteilung[1] berichten H. E. KLEINE-NATROP über die *Prüfung von Pudern und Pudergrundlagen auf Reizlosigkeit, Keimfreiheit und Beeinflussung der Hauttemperatur*, sowie O. SALZMANN und G. A. ULEX über die *Bestimmungen des Fett- und Wasserlöslichen, des p_H-Wertes und des „Verstäubungswertes"*. Zur Prüfung der Puder auf Beeinflussung der Temperatur der gesunden Haut (Kühlwirkung) wird auf eine frühere Veröffentlichung[2] hingewiesen, für die Prüfung auf erkrankter, besonders verletzter Haut liegen Standardbeispiele noch nicht vor. Für die Prüfung der Reizlosigkeit gewöhnlicher Puder auf intakter Haut wird der bekannte Läppchentest empfohlen, bei negativem Ausfall kommt der Shelanski-Test in Betracht. Medikamentöse Puder auf verletzter Haut, in Wunden und bei besonders guten Resorptionsverhältnissen müssen in bezug auf Reizlosigkeit nach den üblichen Richtlinien für toxikologische und Verträglichkeitsprüfungen beurteilt werden. Zur Prüfung auf Keimfreiheit werden die amerikanischen Vorschriften (USP XIV) empfohlen (Sabourund-Medium für Pilze und Hefen, Thioglykolatmedium für Bakterien). — *Bestimmung des Petrolätherlöslichen.* 6 g Puder werden in einem Jenaer-Glasfiltertiegel G3 mit einem Rundfilter (⌀ 3 cm) und etwas Watte bedeckt und in einen Extraktionsapparat 3 Std mit Petroläther kontinuierlich extrahiert. Nach Abdestillieren des Petroläthers wird der Rückstand 30 min bei 105° C getrocknet, im Exsiccator abgekühlt und gewogen. — *Bestimmung des Wasserlöslichen.* Die vom Petrolätherlöslichen befreite Probe wird in einer 300 ml-Flasche mit 120 ml Wasser von 20° C 6 Std in einer Schüttelmaschine (100 Hin- und Rückstöße je Minute; 12 cm Weglänge) geschüttelt und dann durch Asbest filtriert. 50 ml des klaren Filtrats werden in einer Platinschale eingedampft, der Rückstand wird bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. — *Zur p_H-Bestimmung* mit der Glaselektrode dient ein weiterer Teil des klaren wäßrigen Filtrats. — Der *Verstäubungswert* gibt an, wieviel Puder unter festgelegten Bedingungen von 100 g Puder verstäubt werden. Man gibt 5 g frisch gesiebten Puder in eine runde Glasschale (⌀ 40 mm, Höhe 30 mm) und bläst durch ein Rohr (4 mm ⌀), dessen Öffnung in 80 mm Entfernung von

der Bodenfläche des Gefäßes gegen den Mittelpunkt der Schale gerichtet ist, 5 Luftstöße (1 Luftstoß je Sekunde) mit Hilfe eines Gummiballes (Inhalt 50 ml) in den Puder. Der zurückgebliebene Puder wird gewogen. Man wiederholt den Versuch 5mal und nimmt das Mittel aus den Bestimmungen. Zur Eichung der Versuchsanordnung dient Talkum mit dem Schüttelvolumen 25 g = 49—51 ml, das einen Verstäubungswert von 21—24 aufweisen soll.

[1] Fette u. Seifen **61**, 771—774 (1959). — [2] Kleine-Natrop, H. E.: Fette u. Seifen **58**, 243 (1956). A. Kurtenacker

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Zur Reinheitsprüfung pharmazeutischer Präparate mit Hilfe von Mikromethoden beschreibt H. Lehner[1] 3 verschiedene Beispiele. Das erste betrifft die *Bestimmung von Xanthonspuren in „Spalisal"*, die *polarographisch* durchgeführt wird. Die Substanz wird dabei in einem 0,01 m Puffer von p_H 6,9 gelöst. Die auftretende Stufe ist konzentrationsproportional, so daß keine zeitraubenden Trennoperationen erforderlich sind. Mengen von 0,1—0,01‰ können bestimmt werden. — Das 2. Beispiel betrifft die *Bestimmung von chlorierten Nebenprodukten*, die in verschiedenen synthetischen Arzneistoffen auftreten können. Hierzu wird die Verbrennungsmethode von W. Schöniger[2] benutzt; dabei wird jedoch das benutzte Filtrierpapier vor Gebrauch mit n-Natronlauge und Wasser gewaschen, um den Blindwert herabzusetzen, und es wird ein Kolben mit unten angesetztem Titrierbecher verwendet, damit die zur anschließenden *potentiometrischen* Titration erforderlichen Elektroden eintauchen können. Als Absorptionslösung dient ein Gemisch von 1 ml Wasserstoffperoxydlösung und 9 ml 0,02 n Kalilauge[3]. — Ähnlich kann auch *Schwefel* bestimmt werden. — Als letztes Beispiel führt der Verf. die *Bestimmung von Magnesiumspuren in einem Gemisch von Na- und Ca-Salzen komplexbildender Polyhydroxysäuren* an. Hierzu wird die Probelösung auf eine *Austauschersäule* aus Dowex 50 W X 8 (H^+-Form) gegeben, wo Mg, Ca und Na festgehalten und die Polyhydroxysäuren ausgewaschen werden. Die Kationen werden dann mit n-Salzsäure eluiert und treten in der Reihenfolge Na-Mg-Ca gut getrennt aus der Säule aus. Magnesium kann im Eluat nach einer beliebigen Methode bestimmt werden. Noch 20 μg Mg/g Salzgemisch sind bestimmbar. Das Verfahren kann auch zur *Mg-Bestimmung in Calciumchlorid p.a.* benutzt werden.

[1] Chimia (Aarau) **13**, 248—252 (1959). Dr. Wander A.G., Bern (Schweiz). — [2] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 123; vgl. diese Z. **150**, 306 (1956). — [3] Gysel, H.: Helv. chim. Acta **24**, 128E (1941). Johanna Sepp

Die gaschromatographische Bestimmung von Wasser in pharmazeutischen Präparaten wie z. B. in Creme, Salben, Haarwaschmitteln u. a. beschreiben D. A. Elvidge und K. A. Proctor[1]. Die Proben werden in Aceton gelöst, mit n-Pentanol als innerem Standard versetzt und auf üblichem Wege gaschromatographisch untersucht. Die Auswertung erfolgt über die Spitzenhöhen. Die Ergebnisse stimmen gut mit denen der Methode von Dean und Stark überein. — *Arbeitsweise.* Es wird der früher für die Bestimmung von Chloroform entwickelte Apparat verwendet[2]. Die Säule ist etwa 1,50 m lang und mit 20% Carbowax 1500 auf Chromosorb (36—85 mesh) gefüllt. Die Säulentemperatur beträgt 117° C. Als Trägergas dient eine Mischung aus Wasserstoff und Stickstoff (4 + 1 Teile) mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 100 ml/min. 4 Platindrähte wurden zur Bestimmung der Wärmeleitfähigkeit verwendet. Der Brückenstrom betrug 200 mA, die Probengröße 30 μl. Als Recorder wurde das Honeywell-Brown-Modell mit

2,5 mV Vollausschlag verwendet. Das Höhenäquivalent zu einem theoretischen Boden (HETP) betrug 0,32 cm, das Retentionsvolumen war für Wasser 225 ml und für n-Pentanol 525 ml.

[1] Analyst **84**, 461—463 (1959). Boots Pure Drug Co. Ltd., Beeston, Nottingham (England). — [2] Brealey, L., D. A. Elvidge u. K. A. Proctor: Analyst **84**, 221 (1959); vgl. diese Z. **172**, 461 (1960). D. Jentzsch

Über die argentometrische Titration des Chloridions bei organischen Assoziations-Kolloiden berichtet Th. Eckert[1]. Bei der Bestimmung des Chloridgehaltes organischer Basenhydrochloride nach K. Fajans und O. Hassel[2], erhält man bei Verbindungen, die die Eigenschaften einer Kationenseife haben, d. h. die in wäßriger Lösung weitestgehend assoziiert sind, mit Fluorescein als Indicator keinen Umschlag. Kurz vor dem errechneten Äquivalenzpunkt tritt eine Trübung auf, die in keinem Verhältnis zur Chloridmenge steht. Diese Störung kann beseitigt werden, indem das eingewogene Hydrochlorid in 30 ml 70%igem Methanol gelöst wird und nach Zusatz einiger Tropfen Fluoresceinlösung mit 0,1 n Silbernitratlösung bis zum Umschlag titriert wird. Die erhaltenen Chloridwerte zeigen eine gute Übereinstimmung mit nach Carius erhaltenen gravimetrischen Resultaten. Untersucht werden das *3,4,5-Tributoxy-benzoesäure-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid* und baktericide quaternäre Invertseifen, z. B. *Cetylpyridiniumchlorid*. Eine Erklärung der Störung wird gegeben und so die Beobachtung von A. Santoz Ruiz und R. Portillo[3] gedeutet, wonach eine Titration anorganischer Chloride bei Anwesenheit von Na-Oleat nicht möglich ist.

[1] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **292**, 320—323 (1959). Pharmaz. Inst. Univ. Frankfurt/Main. — [2] Fajans, K., u. O. Hassel: Z. Elektrochem. **29**, 495 (1923); vgl. diese Z. **64**, 351 (1924). — [3] An. Soc. españ. Fisica Quím. **36**, 91 (1941). H. Zimmer

Die unter dem Namen „Tween" auf dem Markt befindlichen Monofettsäureester der 1,ω-Dihydroxypolyäthylenoxyde lassen sich nach R. Neu[1] gravimetrisch mit Bariumchlorid und Natriumtetraphenyloborat bestimmen. Die Methode wurde an den Tweenen 20, 40, 60 und 80 erprobt. Bei diesen handelt es sich um nachstehende Ester: 1. Tween 20 = PÄO-Sorbitan-monolaurat, 2. Tween 40 = PÄO-Sorbitan-monopalmitat, 3. Tween 60 = PÄO-Sorbitan-monostearat und 4. Tween 80 = PÄO-Sorbitan-monooleat. — *Arbeitsweise.* 100 mg der Probe werden in 10 ml bidest. Wasser gelöst und mit 1 ml 10%iger Bariumchloridlösung auf siedendem Wasserbad 15 min lang erhitzt. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur werden unter Umrühren 10 ml 3%ige wäßrige Natriumtetraphenyloboratlösung zugesetzt. Nach 14 Std wird der Niederschlag auf konstant getrockneter Glassinternutsche (G 2) abgesaugt, mit 100 ml Wasser ausgewaschen und im Vakuum bei 50° C getrocknet und gewogen. Genau 100 mg des komplexen Niederschlages werden in einem 300 ml-Erlenmeyer-Schliffkolben in 10 ml Aceton gelöst und nacheinander mit 40 ml Methanol, 3 g Quecksilber(II)-chlorid, 1 g Natriumchlorid und 120 ml Wasser versetzt. Das verschlossene Gefäß wird 1 Std bei Zimmertemperatur mit dem Magnetrührer gerührt. Nach Zusatz von 2 Tr. 0,5%iger alkoholischer Bromkresolpurpurlösung wird mit 0,1 n Alkalilauge titriert. Anschließend wird nach Zusatz von 10 g Sorbit (zur Borsäurebestimmung) wieder titriert. Darauf wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert und das ausgeschiedene Phenylquecksilberchlorid abgesaugt, mit verd. Salzsäure nachgewaschen und auf siedendem Wasserbad das Methanol entfernt. Nach nochmaligem Absaugen wird die klare wäßrige Lösung nach Zusatz von 10 ml 2 n Schwefelsäure auf dem Wasserbad erhitzt, bis das ausgeschiedene Bariumsulfat grobkörnig geworden ist. Nach Filtration durch

Blaubandfilter, Waschen mit Aceton und Wasser abwechselnd und schließlich mit Wasser allein wird das Barium bestimmt. Aus den Titrationswerten erhält man die Milligramm Salzsäure und Borsäure. Aus diesen lassen sich die Mengen an Tetraphenyl und Bor bzw. Tetraphenyloborat berechnen. Aus den erhaltenen prozentualen Anteilen an Tetraphenylbor und Barium ergibt sich aus der Differenz zu 100 und der oben erhaltenen Menge Niederschlag der prozentuale Anteil an Tween.

[1] Arzneimittel-Forsch. **9**, 585—587 (1959). Fa. Dr. Willmar Schwabe G.m.b.H., Karlsruhe. B. Rossmann

Zur colorimetrischen Bestimmung von Äthyl-n-amylketon in Lavendel- und Lavandinöl eignet sich nach D. H. E. Tattje und C. Scholtens[1] die Messung der mit *3,5-Dinitrobenzoesäure* in alkoholischer Lösung entstehenden Farbe, die bei 5450 Å ein Absorptionsmaximum besitzt. Um das Auskristallisieren von Salzen zu vermeiden, soll die Reagenslösung höchstens 4%ig sein. Der Laugezusatz soll unter den Bedingungen der Arbeitsvorschrift 2 ml 3,50 n NaOH-Lösung betragen, die günstigste Arbeitstemperatur ist 20° C. Oberhalb 25° C sinkt die Farbintensität. Die Eichkurve ist zwischen 0 und 12 mg Äthyl-n-amylketon eine Gerade mit E (1%, 1 cm) = 18,6 (Standardabweichung 0,452). D-Campher, Cineol und Linalool geben keine Farbreaktion mit 3,5-Dinitrobenzoesäure. Bei der Untersuchung von Lavendöl oder Lavandinöl liefert das beschriebene Verfahren nur dann mit der Hydroxylaminmethode übereinstimmende Werte, wenn die Öle vor der Analyse verseift werden. Die colorimetrisch erhaltenen Werte streuen weniger als die Resultate der Hydroxylaminmethode. — *Ausführung.* Man mischt bei 20° C 4 ml der äthanolischen Lösung von Äthyl-n-amylketon (maximal 3 mg/ml) mit 5 ml 4%iger äthanolischer Lösung von 3,5-Dinitrobenzoesäure, fügt 2 ml 3,50 n Natronlauge zu und mißt die Farbe nach etwa 20 min in einer 0,50 cm-Küvette bei 5450 Å gegen eine gleichzeitig zu bereitende Blindlösung aus 4 ml Äthanol, 5 ml Reagenslösung und 2 ml 3,50 n Natronlauge. Im Dunkeln bleibt die Farbintensität einige Tage konstant.

[1] Pharm. Weekbl. **94**, 137—142 (1959) [Holländisch]. Univ. Groningen u. N. V. Chem. Fabriek „Flebo", Hoogezand (Holland). Ursula Baumann

Für die Papierchromatographie von Barbituraten empfehlen R. Hilf, G. A. Lightbourn und F. F. Castano[1] ein Verfahren, das sich eng an das von E. J. Algeri und J. T. Walker[2] anlehnt. Sie untersuchen mit dieser Methode 19 handelsübliche Barbiturate. Es wird jedoch absteigend chromatographiert. Als Laufmittel dient mit 5 n Ammoniak gesätt. n-Butanol. Die wäßrige Phase des Gemisches wird abgetrennt und zur Äquilibrierung benutzt. — *Trennung von Barbituraten aus biologischen Flüssigkeiten.* In einem Scheidetrichter werden 20 ml Harn oder 10 ml Gesamtblut mit 1 ml 10%iger Salzsäure angesäuert und mit je 25 ml Chloroform 3mal ausgeschüttelt. Die Extrakte werden vereinigt und zur Trockne gebracht. Den Rückstand nimmt man in 0,5 ml Äther auf. 20 μl dieser Lösung werden auf 17—20 cm breite Streifen Whatman-Papier Nr. 1 (für Chromatographie) 7,5 cm vom Ende in Abständen von 2,5 cm aufgetragen und mit einem Föhn getrocknet. Standardsubstanzen werden in äthanolischer Lösung verwendet. Man chromatographiert 16 Std (am besten über Nacht), zeichnet die Lösungsmittelfront an und trocknet die Streifen. Sie werden zunächst im UV-Licht betrachtet, wobei leuchtend purpurne Flecken auf dunkelpurpurnem Grund sichtbar werden. Für die Identifikation werden 3 verschiedene Verfahren angegeben. 1. Einen Streifen taucht man einige Minuten in eine Lösung aus 5 g gelbem Quecksilberoxyd, 20 ml konz. Schwefelsäure und 100 ml Wasser. Nach dem Auswaschen mit Wasser taucht man in eine 0,1%ige Lösung von s-Dimethylcarbazon in 95%igem Alkohol. Es zeigen sich dunkelrote Flecken auf hellrotem Grund. 2. Einen zweiten Streifen taucht man in 10%ige wäßrige Kaliumpermanganatlösung und wäscht den Reagensüberschuß

gründlich aus. Es entstehen dunkelbraune Flecken auf hellem Grund. 3. Ein anderer Streifen wird mit 1%iger wäßriger Silberacetatlösung besprüht. Nach 3 min wird der Streifen mit Wasser 1 min lang gewaschen und dann in eine 0,1%ige Lösung von s-Diphenylcarbazon in 95%igem Alkohol getaucht. Es erscheinen dunkle braune bis graue Flecken auf grau bis rosa Grund. Mit 2 und 3 erhält man die besten Ergebnisse. — Zur *quantitativen Bestimmung* werden die Flecken eluiert, die die Silberbarbituratsalze enthalten. Die Papierschnitzel werden in einem 20 ml-Becherglas mit 5 ml 10%iger Salzsäure versetzt. Nach 5—10 min wird der Überstand dekantiert und der Rückstand noch einmal so behandelt. Die vereinigten Lösungen werden in einem Scheidetrichter mit 10 ml Chloroform, das vorher mit 0,45 n Natronlauge gewaschen worden ist, extrahiert. Die Extraktion wird wiederholt. Die vereinigten Chloroformextrakte werden in einem Schütteltrichter mit 3,5 ml 0,45 n Natronlauge ausgeschüttelt. Die Chloroformschicht wird verworfen. Die Absorption der alkalischen Lösung mißt man im UV-Bereich in 3 ml-Quarzküvetten in einem Beckman-Spektrophotometer, Modell DU. Für die Blindprobe werden substanzfreie Papierstückchen ebenso behandelt. — Verff. erhalten nach 1 Tag Äquilibrierung und mit der Silberacetatanfärbemethode folgende R_f-*Werte*: *Alurat 0,63, Amytal 0,73, Barbital 0,47, Butabarbital 0,65, Delvinal 0,57, Dial 0,55, Evipal 0,71, Ipral 0,59, Mebaral 0,61, Neonal 0,69, Ortal 0,76, Pentobarbital 0,71, Pentothal 0,77, Pernostal 0,69, Phanardon 0,58, Phenobarbital 0,50, Sandoptal 0,67, Seconal 0,76 Surital 0,72.*

[1] J. Lab. clin. Med. **54**, 320—324 (1959). Army Area Med. Lab., Fort Baker, Calif. (USA). — [2] Amer. J. clin. Pathol. **22**, 37 (1952). MARGOT ZIMMERMANN

Zur Bestimmung von Barbitursäurederivaten werden diese nach C. O. BJÖRLING, A. BERGGREN und B. WILLMAN-JOHNSON[1] als Quecksilberkomplexe gefällt, die Quecksilberverbindung wird mit organischen Lösungsmitteln extrahiert und das Quecksilber mit Dithizon bestimmt. — *Arbeitsvorschrift.* In einen Scheidetrichter gibt man 1 ml Quecksilbernitratlösung (300 mg + 1 ml 0,1 n Salpetersäure zu 100 ml in Wasser gelöst) 1 ml 0,3 m Phosphat- oder Boratpuffer und bis zu 10 ml wäßrige Lösung mit 30—300 μg Barbitursäurederivaten. Nun wird 4mal mit je 10 ml Chloroform (oder Chloroform mit 20% Benzylalkohol bzw. 20% Dioxan) ausgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und durch einen Glaswollepfropfen filtriert. Nun werden 5—40 ml einer Lösung von 15 mg Dithizon in 1 l Chloroform zugefügt, auf 100 ml mit Chloroform aufgefüllt und die Extinktion des Quecksilberkomplexes bei 605 nm in einer 1 cm-Küvette gegen eine Lösung aus der gleichen Menge Dithizonlösung und 40 ml organischem Lösungsmittel in Chloroform zu 100 ml gemessen. An Hand von Eichkurven können die Barbituratgehalte aus der Extinktion erhalten werden. Durch Benutzung geringerer Volumina an Reagens kann man bis zu 2 μg Barbiturat bestimmen. Es wird nach der obigen Vorschrift mit folgenden Mengen gearbeitet: 40 μl Quecksilbernitratlösung, 40 μl Puffer, 400 μl Lösung von Barbiturat (2—20 μg). Man schüttelt mit einmal 4 ml und zweimal 3 ml Chloroform aus, gibt 4 ml Dithizon zu und füllt auf 15 ml mit Chloroform auf. Die Extinktionsmessung wird in einer 4 cm-Küvette vorgenommen. Bei der Bestimmung stören, Br^-, J^-, CN^-, Stearinsäure und Thiouracile in größeren Mengen, Phenazon und Hydantoine. Es stören nicht: Theophyllin, Coffein, Theobromin, Pentamethyltetrazol, Hexamethylentetramin, Sulfanilsäureamid, Sulfathiazol, Acetanilid, Phenacetin, Aminophenazon, Papaverin und Nitrofuracin.

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **11**, 297—303 (1959). Pharmacia, Ltd., Uppsala (Schweden). E. BAYER

Über die Anwendung von Glucosetestpapieren in der Arzneimittelanalyse berichten W. WEUFFEN, E. WABNITZ und E. POHLOUDEK-FABINI[1]. Verff. untersuchen mit den Glucosetestpapieren „Glucotest" und „Clinitix" 300 einzelne Arzneistoffe

bzw. Gemische von Arzneimitteln. Diese Papiere sind mit den Enzymen Glucoseoxydase und Peroxydase und dem Chromogen o-Dianisidin imprägniert. Es zeigt sich, daß die Reaktion dieser Teststreifen äußerst spezifisch auf Glucose ist und nur in wenigen Fällen durch starke Reduktions- *(Ameisensäure, Phenole, Ascorbinsäure)* bzw. Oxydationsmittel (*Peroxyde, Braunstein* usw.) gestört wird. Bei *Aldehyden* und *Glykosiden* treten vereinzelt Störungen auf. Zum Teil ist auch ein Umgehen dieser Störungen möglich. Die Glucosetestpapiere dürften damit auch in der Arzneimittelanalyse eine geeignete Anwendung finden.

[1] Pharmazie **14**, 445—447 (1959). Univ. Greifswald. JOHANNA SEPP

Über Reaktionen der Desosen und ihre Anwendung zur Bestimmung der Glykoside dieser Desosen berichten H. WACHSMUTH und L. VAN KOECKHOVEN[1]. Von den zahlreichen untersuchten Reagentien wird besonders *Molybdänsäure* empfohlen. In einer Essigsäure und etwa 20% Schwefelsäure enthaltenden Lösung geben schon einige Mikrogramme der Desosen eine tiefblaue Färbung, die wenigstens 24 Std beständig ist. Die Reaktion ist für die Desosen (Desoxyribose, Desoxyglucose, Desoxygalaktose) spezifisch, andere Zuckerarten reagieren nicht. Von den Glykosiden geben nur solche die Reaktion, die Desosen enthalten. Da die Reaktion stöchiometrisch verläuft, kann sie zur quantitativen Bestimmung z. B. von *Digitoxose, Digitoxin, Digoxin* dienen. Man löst die Probe in 2 ml Eisessig und versetzt mit 0,5 ml Molybdänsäurereagens (0,5 ml 50%iger wäßriger Na-Molybdatlösung in 25 ml Eisessig). Hierauf gibt man der Lösung noch 0,5 ml Eisessig zu, der 10 Vol-% Schwefelsäure enthält, läßt 3 Std stehen, füllt mit Eisessig auf 5 ml auf und mißt in 10 mm-Küvetten bei 675 nm. — *o-Phthaldialdehyd* gibt mit Desosen in stark salzsaurer Lösung eine schöne rote Färbung, beim Alkalischmachen tritt intensive Fluorescenz im UV-Licht auf. Man kann auf diese Art z. B. 0,25 μg Desoxyribose/ml neben 1000 μg Ribose nachweisen. Auch quantitative Bestimmungen sind möglich. Zur Bestimmung von *Desoxyribose* löst man z. B. die Probe in 1 Tr. Wasser, bringt mit Eisessig auf ein Volumen von 2 ml, gibt 0,2 ml Reagens (0,2 g Dialdehyd in 4 ml Alkohol) und 6 ml konz. Salzsäure zu und mißt nach 90 min bei 525 nm. Die 8fache Menge Ribose stört nicht. — *Heteropolysäuren (Phosphorwolframsäure oder Silicowolframsäure)* geben in Acetanhydridlösung mit Desosen Violettfärbung. Die Reaktion ist spezifisch, aber verhältnismäßig wenig empfindlich. — *$BiCl_3$ oder $SbCl_3$* geben in gesätt. Essigsäureanhydridlösung mit den Desosen blaue oder violette Färbungen.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S., **14**, 165—172 (1959). Hôp. Stuivenberg, Antwerpen (Belgien). JOHANNA SEPP

Zur Bestimmung von Kaliumguajacolsulfonat in pharmazeutischen Präparaten geben P. S. N. SARMA und M. KRISHNAMURTHI[1] eine Modifikation der Methode von R. MILTON, J. L. HOSKINS und W. H. F. JACKMAN[2] an. — *Arbeitsvorschrift.* Eine Probe mit 50 mg Kaliumguajacolsulfonat gibt man in einen 300 ml fassenden Kjeldahl-Kolben, fügt 10 ml konz. Salpetersäure hinzu und erwärmt den Kolben vorsichtig über einer kleinen Flamme bis aller Schaum verschwunden ist. Dann fügt man 10 ml einer oxydierenden Lösung (50%ige Lösung von Ammoniumnitrat in 25%iger Salpetersäure) hinzu und dampft vorsichtig ein ohne zu verkohlen. Unter anhaltendem Sieden werden weiter kleine Mengen des Oxydationsreagenses in Abständen zugefügt. Sobald eine farblose Schmelze entstanden ist, werden auf freier Flamme die letzten Reste von Ammoniumnitrat vertrieben. Mit 2 ml konz. Salzsäure wird dann alle Salpetersäure abgedampft. Der Rückstand wird mit 15 ml 1 n Salzsäure aufgenommen und die Lösung auf das halbe Volumen eingedampft. Man überführt mit 50 ml Wasser in ein 150 ml-Becherglas, erhitzt und

setzt 5 ml 5%ige Bariumchloridlösung tropfenweise zu, um das Sulfonat auszufällen. Der Niederschlag wird in einer gewogenen Fritte Nr. 4 gesammelt, 4mal mit Wasser, 6mal mit je 5 ml rektifiziertem Alkohol und 6mal mit je 5 ml Äther gewaschen, 30 min im Vakuumexsiccator getrocknet und gewogen. (1 mg Bariumsulfat entspricht 1,038 mg Kaliumguajacolsulfonat.)

[1] Analyst **84**, 522 (1959). King. Inst, Guindy, Madras (Indien). — [2] Analyst **69**, 299 (1944). JOHANNA SEPP

Einige pharmazeutisch als Antihistaminica und Spasmolytica wichtige Phenylessigsäure-, Imidazolin- und Benzhydryläther-Derivate wurden von M. HÄDICKE[1] mit verschiedenen Reagentien auf charakteristische Farb- und Fällungsreaktionen untersucht. Folgende Reagentien geben besonders typische Farbreaktionen: Schwefelsäure DAB 6 (1); Marquis-Reagens: Formaldehyd/Schwefelsäure DAB 6 (2); Schwefelsäure DAB 6/Salpetersäure 65%ig DAB 6 [9:1] (3); Erdmanns Reagens[2] (4); Vanadin-Schwefelsäure DAB 6 (5); Fröhdes Reagens[2] (6); 3 Tr. 10%ige Phosphormolybdänsäure und 1 ml Ammoniaklösung (7); Bromwasser: gesätt. Lösung auf das 20fache mit Wasser verdünnt (8); Kupfersulfatreagens aus 1 ml Kupfersulfatlösung DAB 6 und 1 ml Ammoniaklösung (9). Einige Milligramm zu untersuchende Substanz werden jeweils mit einigen Tropfen obiger Reagentien versetzt. Oder es werden jeweils 2 ml Reagenslösung zu 1 ml 1%iger wäßriger Lösungen der zu untersuchenden Proben gegeben. Die Reaktionen folgender Substanzen wurden getestet: *Phenyl-aminoessigsäure-isoamylester-hydrochlorid* = „Aklonin" (I), *Diphenylhydroxy-essigsäure-dimethylaminoäthylester-hydrochlorid* = „Simatropin" bzw. „Diphemin" (II), *Diphenyl-hydroxyessigsäure-β-dimethylaminoäthylester-N-methylbromid* = „Hypaventral" (III), *1-Methyl-2-mercapto-imidazol* = „Methiazol", „Faristan", „Mercazol" bzw. „Tapazol" (IV), *2-Benzylimidazolin-hydrochlorid* — „Tolazolinhydrochlorid" bzw. „Periscol" (V), *2-(Naphthyl-1'-methyl)-imidazolin-hydrochlorid* = „Imidin" bzw. „Privin" (VI), *Tartrat mit je 1 Mol der Verbindung (II) und (VI) als Basenbestandteilen* = „Rhinex compositum" (VII), *β-Dimethylaminoäthyl-benzhydryläther-hydrochlorid* = „Diabenyl", „Benadryl", „Dabylen" bzw. „Novomina" (VIII) und *β-Diäthylaminoäthyl-benzhydryläther-hydrochlorid* = „Antiparkin" bzw. „PKM" (IX). — *Farbreaktionen in festem Zustand.* Mit Reagens 1 wird Substanz II gelb → himbeerrot, III gelborange → himbeerrot, VII gelborange → himbeerrot; mit Reagens 2 wird die Substanz II gelb → grün → blau, III gelb → tief grünlichblau → violett, V orange, VI und VII stahlblau; mit Reagens 3 Substanz VII und IX intensiv dunkelrot. — *Farbreaktionen in Lösung.* Mit Reagens 1 Substanz II und III himbeerrot; mit Reagens 2 bei Substanz II die Berührungszone dunkelblau, die Schwefelsäure grünblau; bei III Berührungszone türkisfarben → dunkelblau, die Schwefelsäure blau; bei VI Berührungszone dunkelolivgrün, Schwefelsäure hell stahlblau; mit Reagens 3 Substanz VIII und IX rotviolett → braunschwarz → gelborange; mit Reagens 4 Substanz VIII und IX intensiv gelb; mit Reagens 5 Substanz IV hell grünblau; mit Reagens 6 Substanz II rötlich → gelb → rotviolett → blau, Substanz III gelblichgrün → tiefdunkelblau, VII gelblich → dunkelgrün → blau; mit Reagens 7 Substanz IV dunkelblaue Trübung, dann tiefdunkelblau klar; mit Reagens 8 Substanz VI grünlichgelb, violett (1 Std), farblos, Substanz VII grünlichgelb, violett (1 Std) → blau (weit. Stunden); mit Reagens 9 Substanz IV blaue Ausflockung und nach etwa 10 Std kleine weiße Kristalle. — Ebenfalls durchgeführte Fällungsreaktionen sind weniger typisch als die hier geschilderten Farbreaktionen.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **98**, 377—385 (1959). Staatl. Inst. Arzneimittelprüfung Jena. — [2] Vgl. BAUER, K. H.: Die organische Analyse, S. 468ff. Leipzig 1950. E. BAYER

Saccharin und Dulcin nebeneinander werden von Y. Nagase, S. Baba und M. Suzuki[1] an Hand des Infrarotspektrums quantitativ bestimmt. Zur Auswertung werden die Schlüsselbanden bei 970 cm^{-1} (Saccharin) und 820 cm^{-1} (Dulcin) herangezogen. Die Probe wird mit dem 20fachen Volumen KBr gemischt und zur Untersuchung präpariert. Die Nachweisgrenze liegt bei 50 μg. Die Standardabweichungen für die Mischungen werden nach W. J. Youden[2] bestimmt und sind kleiner als 1,62%.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **79**, 705—708 (1959). [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Tokyo College Pharmacy (Japan). — [2] Analyt. Chemistry **19**, 946 (1947); vgl. diese Z. **131**, 209 (1950). Margot Zimmermann

Untersuchung von Digitalisblättern. Z. Kowalewski[1] hat vier colorimetrische Methoden vergleichend auf ihre Eignung geprüft, die mühsamen und teuren biologischen Verfahren bei der Bewertung der Blätter von Digitalis purpurea und Digitalis lanata zu ersetzen. Das Ergebnis ist, daß keine der geprüften Methoden völlig zufriedenstellende und mit den biologischen übereinstimmende Werte liefert, was aber mit Rücksicht auf die sehr verschiedenartigen Grundlagen der chemischen und biologischen Bewertung verständlich ist. Die Methode von E. Soos[2] (welche die chloroformlösliche Gruppe der Glykoside erfaßt) gibt Werte, die ungefähr proportional der Gehaltzunahme sind. Sie stimmen mit den biologischen Befunden nicht überein. Hauptvorzüge des Verfahrens sind seine Einfachheit und die Schnelligkeit der Ausführung. Es ist für Serienuntersuchungen geeignet. Noch besser ist die Methode von D. E. Tattje und L. van Os[3], mit welcher der Gesamtgehalt an primären und sekundären Glykosiden sowie an Aglykonen erfaßt wird. Der Extinktionskoeffizient nimmt proportional zu analog der Zunahme des biologischen Titers. (Für die Aglykone gilt das allerdings nicht, doch ist ihr Gehalt so klein, daß sie keinen Einfluß auf das Gesamtresultat haben.) Das Verfahren ist verhältnismäßig einfach und benötigt nur leicht zugängliche Reagentien. Die Methode von E. Wegner[4], die die in Chloroform löslichen und unlöslichen Glykoside erfaßt, gibt sehr hohe Resultate, wahrscheinlich verursacht durch fremde Verbindungen, die ebenso wie die Glykoside mit dem Baljet-Reagens reagieren. Die Methode von D. L. Kedde[5], die zur Bestimmung des Gesamtgehaltes an Glykosiden und Aglykonen dient, liefert Resultate, die mit der biologischen Bewertung nicht in Einklang stehen.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 299—307 (1959). [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Staatl. wissenschaftl. Inst. f. pflanzl. Arzneimittel, Poznań (Polen). — [2] Scientia pharmac. **16**, 29 (1948); vgl. diese Z. **140**, 320 (1953). — [3] J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 794 (1953). — [4] Pharmazie **7**, 373 (1952); vgl. diese Z. **139**, 391 (1953). — [5] J. Pharmacy Pharmacol. **21**, 163 (1948). A. Kurtenacker

Hochfrequenztitration von Oxytetracyclin und seinem Hydrochlorid. Die visuelle und potentiometrische Titration von Oxytetracyclinbase und -Hydrochlorid hat einen Fehler von 1%. G. Löber und G. Hesse[1] versuchen diesen durch Hochfrequenztitration herabzusetzen. Die Theorie und Berechnung der Titration mit elektrodenlosen Zellen wird beschrieben. Für die Versuche dient eine Titrationsmeßzelle aus Condensa-F, die im Gegensatz zu der üblichen Größe von 8 ml Inhalt 8mal soviel Substanz aufnehmen kann. Dadurch wird der relative Fehler erheblich vermindert, so daß er kleiner als $\pm$ 0,2% ist. Zur Bestimmung von 350 mg des Hydrochlorids wird dieses in der Vorlage mit 6 ml 3%iger Quecksilber(II)-acetatlösung ausgefällt. Titriert wird aus einer 5 ml-Bürette mit 0,01 ml-Einteilung mit 0,1 n Perchlorsäurelösung in Eisessig. Als Lösungsmittel dient Eisessig. Ein Zusatz von Essigsäureanhydrid, der bei potentiometrischen Titrationen erforderlich ist, ist für die Hochfrequenztitration nicht notwendig. Weicht die

Temperatur von 20° C ab, so ist diese durch die Gleichung $F_T = 1 \pm 0{,}0011\ d$ zu korrigieren, wobei d die Differenz in ° C bedeutet. Das Minuszeichen gilt für Werte über 20° C. Der Gehalt an Oxytetracyclin (in Mikrongramm/Milligramm) berechnet sich nach der Gleichung $G = V\,(\text{ml}) \cdot F \cdot F_T \cdot n \cdot M(\text{g}) \cdot 1000/E\,(\text{mg})$, wobei V den Verbrauch, F den Faktor des Titranten, F_T den Temperaturfaktor, M das Molekulargewicht (= 460,43 für die Base), n die Normalität des Titranten und E die Einwaage bedeuten.

[1] Pharmazie **14**, 214—217 (1959). Inst. Mikrobiol. exp. Therapie, Jena, Akad. Wiss. Berlin. B. Rossmann

Die analytischen Eigenschaften der Derivate des p-Chlorbenzhydryl-piperazins untersucht J. Hoyois[1]. Es handelt sich dabei um folgende Substanzen: „*Chlorcyclizin*", das *Chlorhydrat* des *1-(p-Chlorbenzhydryl)-4-methyl-piperazins*, „*Postafen*", das *Dichlorhydrat* des *1-(p-Chlorbenzhydryl)-4-methylbenzyl-piperazins*, „*Longifen*", das *Dichlorhydrat* des *1-(p-Chlorbenzhydryl)-4-tertiobutylbenzyl-piperazins* und „*Atarax*", das *Dichlorhydrat* des *1-(p-Chlorbenzhydryl)-4-hydroxyäthoxyäthyl-piperazins*. — *Zur quantitativen Bestimmung von Atarax* versetzt man die Probe (0,01—0,1 mg) mit 10 ml konz. Schwefelsäure (D 1,84), erwärmt 15 min auf dem Wasserbad und mißt die Extinktion sofort nach dem Abkühlen bei 465 nm. Die Werte werden aus einer Eichkurve ermittelt. — In Anwesenheit von Barbituraten ist eine andere Methode anzuwenden: Man versetzt eine Probe, die 1—4 mg Atarax enthalten soll, mit 10 ml einer kalt gesättigten wäßrigen Lösung von Reinecke-Salz (Ammoniumsalz) und schüttelt um. Nach 30 min filtriert man durch eine Glasfritte, wäscht mit Wasser (10 ml) nach, bis das Filtrat farblos ist, löst den Niederschlag in Aceton, füllt auf 5 ml auf und mißt die Extinktion (hier mit dem Filter 505 des Colorimeters von Bausch und Lomb). — In Anwesenheit von Lactose, Talcum oder Stärke extrahiert man 30 min mit Alkohol und bestimmt die Substanz in einem aliquoten Teil nach der Schwefelsäuremethode. — *Zur quantitativen Bestimmung von Postafen* wird die oben beschriebene Schwefelsäuremethode verwendet, in Anwesenheit von Talcum, Lactose oder Stärke nach vorheriger Extraktion. Die Färbung verblaßt nicht so schnell wie bei Atarax. — *Longifen* und *Chlorcyclizin* werden ebenso bestimmt.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S. **14**, 200—214 (1959). Univ. Libre, Brüssel (Belgien). Ursula Baumann

Mit der Analytik einiger pharmazeutisch verwendeter Purinderivate (Harnsäure, Theophyllin, Theobromin und Coffein) beschäftigen sich H. Kala, H. Moldenhauer und K. Wolff[1]. Als Gruppennachweis wird die Murexidreaktion vorgeschlagen. Die Verff. finden, daß als Zwischenprodukt bei der Murexidreaktion keineswegs Alloxanthin auftritt, wie dies P. Karrer[2] angenommen hat, da dieses in gereinigtem Zustand mit Ammoniak keine Violettfärbung gibt. In Übereinstimmung mit H. Schreiber[3] nehmen die Verff. an, daß zunächst Alloxan und Uramil sowie Aminoameisensäure entstehen, die in weiterer Raektion Purpursäure bilden. Diese gibt mit Ammoniak Murexid. — Zur *Identifizierung von Coffein* wird der Nachweis von A. Martini[4] empfohlen, wobei die Erfassungsgrenze $< 1\ \mu$g beträgt. Hierzu wird 1 Tr. einer 0,1%igen Coffeinlösung auf einem Objektträger mit 1 Tr. 5%iger Kaliumjodidlösung und 1 Tr. Wismut(III)-chloridlösung versetzt (0,74 g Wismuttrioxyd + 99,26 g 12,5%ige Salzsäure). Bei Anwesenheit von Coffein tritt eine orangerote Fällung auf, die beim Erwärmen in Lösung geht und beim Erkalten auskristallisiert. — Zum *Nachweis von Theophyllin* werden 2 Nachweise erprobt. a) Nachweis mit Gibbs-Reagens (vgl. H. W. Raybin[5]). 2 ml einer 0,1 bis 0,01%igen Theophyllinlösung werden mit 2 ml Boraxpuffer (19,1 g $Na_2B_4O_7 \cdot 1\,H_2O$ auf 1000 ml) vermischt und 2 Tr. Gibbs-Reagens (0,4%ige methanolische Lösung

von 2,6-Dichlorchinonchlorimid) hinzugefügt. Nach ungefähr 5 min tritt eine tiefblaue Färbung auf. Die Empfindlichkeit dieses Nachweises beträgt 200 μg. Harnsäure gibt hierbei eine gelborange Färbung. b) Nachweis mit Chloroform und Kalilauge. 1 mg der Probe wird in einem Reagensglas mit einem Körnchen Ätzkali, 1 ml Chloroform und 1 ml Wasser versetzt und zum Sieden erhitzt. Die wäßrige Phase färbt sich dabei gelb. Bei Zugabe von 1 ml diazotierter Anästhesinlösung (2 ml 0,5%ige Natriumnitritlösung + 48 ml 0,5%ige Anästhesinlösung in 2,5%iger Salzsäure) zur wäßrigen Phase erfolgt Umschlag auf Rot. Es können noch 200 μg Theophyllin erfaßt werden. — Zum *Nachweis von Theobromin* ist zunächst eine papierchromatographische Trennung der Purine erforderlich. Diese erfolgt auf Papier Schl. & Sch. 2043b nach der Rundfiltermethode. Als mobile Phase dient n-Propanol-Wasser-kalt gesätt. Boraxlösung (7:2,5:0,5). Zur Sichtbarmachung der Purine wird zuerst mit 15%iger Kalilauge (in 50%igem Methanol) und dann mit diazotierter Anästhesinlösung besprüht. Theobromin und Theophyllin ergeben im UV-Licht stark hellblau fluorescierende Ringe. Der R_f-Wert von Theobromin beträgt 0,49—0,51. — Zum *Nachweis von Harnsäure* werden 2 Teste angegeben. a) Mit Gibbs-Reagens erhält man eine Gelbfärbung; bei Zugabe von 2 Tr. einer 1%igen Silbernitratlösung erfolgt Umschlag nach Rot. Die Grenzkonzentration beträgt $1:10^7$. b) Beim Nachweis mit Chloroform und Kalilauge wird die wäßrige Phase wie bei Theophyllin gelb gefärbt. Mit diazotierter Anästhesinlösung erfolgt Vertiefung der Gelbfärbung.

[1] Pharmazie **14**, 519—524 (1959). Univ. Halle-Wittenberg. — [2] Lehrbuch der organischen Chemie, Stuttgart 1954. — [3] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **291/63**, 20 (1958). — [4] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **29**, 170 (1941). — [5] J. Amer. chem. Soc. **67**, 1621 (1945). G. Kainz

Alkaloide. R. Paris und G. Faugeras[1] sind bei der *Papierelektrophorese von Alkaloiden* zu folgenden Ergebnissen allgemeiner Natur für optimale Versuchsbedingungen gelangt: Die Natur des verwendeten Lösungsmittels ist meist ohne Belang, es kann also stets in demjenigen Lösungsmittel (oder Gemisch) gearbeitet werden, mit dem z. B. extrahiert wurde. Die Konzentration soll stets so bemessen sein, daß 0,5—10 μg der Base aufgegeben werden. Die Ausdehnung des Startflecks ist selbst bei einem Volumen von 50 μl noch günstig. Die Art des Papiers spielt eine nur untergeordnete Rolle (verwendet wird Arches No. 301). Zur Kennzeichnung der Zonen kann UV-Licht (z. B. bei Rauwolfiapräparaten) oder die Jodentwicklung verwendet werden, doch sind beide Methoden nicht sehr spezifisch. Besser ist Dragendorff-Reagens, am besten die Methode von M. François und L. Seguin[2], nach der die Identifizierung aus der Färbung möglich ist, die sich im allgemeinen mit steigendem Molekulargewicht von Violett-rosa über Violett und Rot nach Orange ändert. Für die quantitative Bestimmung wird die Photometrie nach Entwicklung mit Dragendorff-Reagens empfohlen. — Im allgemeinen werden beste Resultate mit sauren Lösungen (2 n Ameisensäure) oder mit Lösungen flüchtiger Base (10%iges Ammoniak) von nicht zu geringer Konzentration erhalten, vornehmlich bei p_H-Werten unter 3 oder oberhalb 10. Die Stromstärke soll möglichst gering, die Feldstärke hoch sein. — Auf Anwendungen für pflanzenphysiologische Untersuchungen und vor allem auf dem Gebiet der Pharmazie und Chemie ist hingewiesen.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S. **14**, 15—21 (1959). Fac. Pharmacie, Paris (Frankreich). — [2] J. Pharmac. Chim. **2**, 59 (1925). K. Cruse

Die papierchromatographische Trennung des Lobinalins von den Alkaloiden der Lobelia inflata-Gruppe, die nach der früher beschriebenen Methode[1] einen Fleck bilden, führen F. Kaczmarek und E. Steinegger[2] durch. Es eignen sich die Papiersorten Schl. & Sch. 2043 bm und 2045 bm, die mit Formamid pur. oder p. a. mit

Ammoniumformiatzusatz in acetonischer Lösung (9 + 20) getränkt werden. Das Papier wird 15 min bei Zimmertemperatur getrocknet und nach dem Auftragen der Alkaloide (in Methanol-Chloroform [1 + 9] gelöst) 30 min zur Äquilibrierung in die Chromatographierkammer gehängt. Als Laufmittel und zur Äquilibrierung dient Benzol-Chloroform (1:1). Es wird absteigend bis zu einer Laufstrecke von 30 cm chromatographiert. Lobelin, Lobelanidin und Lobinal sind so sicher zu trennen.

[1] Kaczmarek, F., u. E. Steinegger: Pharmac. Acta Helvetiae **33**, 201 (1958); vgl. diese Z. **166**, 454 (1959). — [2] Pharmac. Acta Helvetiae **34**, 330—333 (1959). Univ. Bern. (Schweiz). Johanna Sepp

Die Trennung und Bestimmung der Tabakalkaloide aus einer Mischung von Rauch- und Kautabak nimmt A. Sinha[1] nach folgender *Arbeitsweise* vor: Ein feines Pulver des Materials wird mit dest. Wasser im Verhältnis 1:4 aufgeschlämmt, ab und zu durchgerührt und nach 72 Std filtriert. Dieser Extrakt wird mit konz. Salzsäure behandelt, dann mit einem Überschuß von 6%iger Natronlauge in 60%igem Äthylalkohol neutralisiert und schließlich mit $CaCO_3$ vermischt. Dann werden die Alkaloide wiederholt gründlich mit Äther extrahiert bis der Rückstand mit 1,0 ml Bromcyan und 0,2 ml 2,5%iger wäßriger Anilinlösung keine goldgelbe Farbe mehr gibt. Der Ätherextrakt wird dann mit 10%iger Salzsäure behandelt, und die Alkaloidhydrochloride werden im Hochvakuum getrocknet. Die papierchromatographische Trennung wird auf Whatman-Papier Nr. 1, das mit 0,1 m Phosphatpuffer imprägniert ist, mit n-Butanol-Essigsäure (85:15) in der 1. und n-Butanol-Ammoniak-Wasser (90:2:8) in der 2. Richtung durchgeführt. Es wird in jeder Richtung 16 Std bei 20° C chromatographiert. Das Chromatogramm wird im warmen Luftstrom und noch 20 min im Ofen von 45° C getrocknet. Die Flecke werden durch Behandlung mit Bromcyandampf und nachfolgender Einwirkung von 0,25%iger Benzidinlösung in Alkohol sichtbar gemacht und in gewöhnlichem und ultravioletten Licht betrachtet. Die R_f-Werte werden an Hand von Kontrollchromatogrammen festgelegt. Die quantitative Bestimmung erfolgte durch Elution und Colorimetrie. Der Totalalkaloidgehalt in getrockneten Proben von mildem und strengem Tabak lag bei 0,124 und 0,155% w/w. Alkaloide unter 0,5 μg konnten nicht charakterisiert werden.

[1] Current Sci. **28**, 196—197 (1959). Med. College, Agra (Indien). Johanna Sepp

Über die spektrophotometrische Nicotinbestimmung im Tabak berichtet K. Eschle[1]. Die Isolierung des Nicotins erfolgt durch alkalische Wasserdampfdestillation mit Pottasche als Alkalisierungsmittel; es wird eine vereinfachte Apparatur angegeben. Im übrigen wird nach bekannten Methoden[2] verfahren, nur daß die eingewogene *Tabakmenge* von 10 g auf 3 g herabgesetzt wird. Die spektrophotometrische Bestimmung erfolgt nach C. O. Willits, M. L. Swain, J. A. Connelly und B. A. Brice[3]. Es wurden Eichkurven von *Rein-*, *Tabak-* und *Rauchnicotin* aufgestellt und dabei beträchtliche Differenzen zwischen diesen 3 Gruppen festgestellt, die durch störende Substanzen (hauptsächlich Pyridin) verursacht werden. Innerhalb einer Gruppe sind die Ergebnisse jedoch zuverlässig. So traten z. B. bei der Untersuchung einer großen Zahl verschiedener Tabakarten nur Fehler von höchstens $\pm$ 5% auf.

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **50**, 258—263 (1959). Reaktor A.G., Würenlingen/Aargau (Schweiz). — [2] Schweizerisches Lebensmittelbuch (4), (1937), 337. — Staub, M., u. H. Furrer: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **43**, 490 (1952); **44**, 371 (1953); vgl. diese Z. **141**, 398 (1954); **146**, 390 (1955). — [3] Analyt. Chemistry **22**, 430 (1950); vgl. diese Z. **134**, 310 (1951/52).

Johanna Sepp

Mechanismus und optimale Bedingungen qualitativer und quantitativer Reaktionen von chemisch verwandten Opiumalkaloiden mit Schwefelsäure in An- oder Abwesenheit eines Oxydationsmittels werden von H. Wachsmuth und L. Van Koeckhoven[1] untersucht. Durch Variation der Reaktionszeit, der Konzentration der Schwefelsäure, der Temperatur und des zugesetzten Oxydationsmittels [Eisen(III)-chlorid, Mangan oder Bleidioxyd, Vanadinsäure, Natriumselenit- oder arsenat, Kaliumdichromat, Natriummolybdat, Natriumperborat, Kaliumchlorat, Natriumperoxydisulfat, Silberoxyd, Uran(VI)-oxyd, Salpetersäure, Natriumnitrat, Cer(IV)-sulfat, Perjodsäure, Titan(IV)-chlorid] können gleich oder ähnlich reagierende Alkaloide unter Umständen nebeneinander nachgewiesen werden. Untersucht werden *Codein, Dionin, Acetyldihydrocodein, Acedicon, Morphin, Heroin, Strychnin, Yohimbin, Reserpin, Peronin, Dilaudid, Dicodid* und *Eukodal*. Zur quantitativen Bestimmung von Dionin und Codein, weniger gut von Heroin und Morphin wird folgende Methode angewandt: Zu 0,5 ml essigsaurer Lösung des Alkaloids gibt man 0,25 ml einer 0,5%igen Eisen(III)-chloridlösung ($FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$) in Essigsäure. Man füllt mit Essigsäure auf 3 ml auf, setzt 4 ml konz. Schwefelsäure zu und beläßt die Probe 15 min auf einem kochenden Wasserbad. Dann mißt man die Extinktion bei 490 nm. Zur quantitativen Bestimmung von Dionin (mindestens 0,2 mg, selbst in Gegenwart der 10fachen Menge Codein) löst man die Substanz in 3 ml konz. Schwefelsäure, läßt 15 min stehen und fügt dann 3 ml Schwefelsäure zu, die 1 mg Natriumarsenat/Milliliter enthält. Man erwärmt 15 min auf 70° C, kühlt 5 min ab und mißt die Extinktion bei 530 nm.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S. **14**, 215—220 (1959). Hôpital Stuivenberg, Antwerpen (Belgien). Ursula Baumann

Eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung von Reserpin in Lösungen, Drogen und Präparaten geben B. C. Bose und R. Vijayvargiya[1] an. — *Arbeitsweise.* 10 ml der Chloroformlösung mit etwa 1 mg Reserpin werden mit 10 ml 0,05 n Schwefelsäure unter ständigem Rühren erwärmt, um das Chloroform abzudampfen. Die Säurelösung wird mit Chloroform rückextrahiert und das Volumen auf 100 ml aufgefüllt. Dann mißt man die Absorption bei 268 nm in 1 cm-Quarzzellen mit einem Beckman-Spektrophotometer, Modell DU. Störende Alkaloide und basische Unreinheiten aus den Alkaloidmischungen und rohen Drogen entfernt man durch folgende Behandlung: Die zu untersuchende chloroformige Lösung mit etwa 1 mg Reserpin wird mit 4 mal 10 ml 0,1 n Salzsäure 2—3 min extrahiert. Die vereinigten Säureextrakte werden mit 5 ml Chloroform gewaschen, die Waschlösung wird zu der Chloroformphase gegeben. Nach Zusatz von 10 ml 0,05 n Schwefelsäure wird das Chloroform auf dem Wasserbad verdunstet. Die Säurelösung wird dann quantitativ in einen Scheidetrichter gespült und 3mal mit je 10 ml Benzol 10 min extrahiert. Die vereinigten Benzolextrakte werden mit 5 ml 0,05 n Schwefelsäure gewaschen und die Waschlösungen mit der Hauptlösung vereinigt. Darauf wird mit 6mal 10 ml Chloroform ausgezogen. Die vereinigten Chloroformextrakte wäscht man mit 5 ml 0,1 n Salzsäure und dampft in einem Porzellanschälchen zur Trockne. Der Rückstand wird wieder in Chloroform gelöst und die Lösung wie oben weiterbehandelt. — Zur Bestimmung in Tabletten werden etwa 10 Tabletten abgewogen, gepulvert, mit Chloroform extrahiert und filtriert. Das Reserpin wird in in einem aliquoten Teil bestimmt. Rohe Drogen (1 g) werden zur Bestimmung des Reserpins gepulvert und mit Chloroform in einem Mikrosoxhletapparat 4 Std ausgezogen. Nach dem Filtrieren wird das Volumen auf 50 ml aufgefüllt und ein aliquoter Teil von 10 ml auf Reserpin analysiert. Von den anderen Alkaloiden stört nur Rescinnamin in mehr als der gleichen Menge. Die Genauigkeit liegt bei $\pm$ 3—5%.

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **11**, 456—461 (1959). M. G. M. Med. College, Indore (Indien). Johanna Sepp

Eine vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung von Coffein in Kaffeeaufgüssen teilt K. Hase[1] mit. Das Coffein wird nach Entfernung störender Substanzen ohne Extraktion direkt im Aufguß als Coffeinperjodid ausgefällt. Der Niederschlag wird mit Methylalkohol zersetzt und in der Lösung das Coffein photometrisch bestimmt. Es wird eine gute Übereinstimmung mit der Methode nach J. Ritter[2] (Extraktion mit Chloroform) erzielt. — *Arbeitsvorschrift.* 5 g feingemahlenen Kaffee überbrüht man mit 150 ml Wasser, läßt 15 min im Wasserbad bedeckt stehen (oder 2 min kochen lassen), rührt um, filtriert in einen Meßzylinder und verdünnt unter Nachwaschen des Filters auf 150 ml. — 25 ml des Kaffeeaufgusses werden in einem 50 ml-Meßkolben mit 15 ml Wasser und 3 ml Kupfersulfatlösung (69,26 g $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$/l) und nach 5 min Erwärmen im Wasserbad von 60—70° C und Erkalten mit 1,2 ml Kaliumhexacyanoferrat(II)-lösung (150 g/l) versetzt. Enthält der zu untersuchende Aufguß Milch, so verwendet man 4 ml Kupfersulfatlösung und 1,6 ml Hexacyanoferratlösung. Die Lösung wird bei 20° C zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und filtriert. 5 ml des Filtrates pipettiert man in ein 100 ml-Becherglas, säuert mit 2 ml 20%iger Schwefelsäure an und erhitzt 10 min auf einem siedenden Wasserbad. Nach dem Abkühlen wird mit 2 ml 0,1 n Jodlösung das Coffein ausgefällt und nach 4—5 min Stehen durch einen G 4-Filtertiegel filtriert. Das Becherglas wird mit höchstens 1,5 ml Wasser nachgespült. Das Absaugen geschieht mit Hilfe eines Saugtopfes. 3 mal in Abständen von etwa 20 sec stellt man die Pumpe ab und spritzt den Boden der Fritte mit Wasser ab, um die überschüssige Jodlösung zu entfernen. Die Fritte wird anschließend mit Filtrierpapier unten abgetrocknet. In den Saugtopf stellt man ein sauberes 100 ml-Becherglas. Dann zersetzt man den Perjodidniederschlag mit 25 ml Methanol und saugt die Lösung langsam ab. Man wäscht sofort mit 25 ml Wasser nach. Die gelbe Lösung wird auf 22° C temperiert und unter Verwendung einer 2 cm-Küvette mit dem Filter S 47 photometriert. Als Bezugsflüssigkeit wird ein Blindansatz verwendet.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **110**, 127—128 (1959). Bezirks-Hygiene-Inst., Karl-Marx-Stadt. — [2] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **98**, 807 (1954); vgl. diese Z. **146**, 301 (1955). Margot Zimmermann

Über eine neue Farbreaktion und eine photometrische Bestimmungsmethode des Coffeins berichten H. Wachsmuth und L. van Koeckhoven[1]. Das Coffein wird in 0,25 ml einer Lösung von 0,5 ml Acetylaceton in 5 ml 2 n Natronlauge gelöst, 7 min auf 80° C erwärmt und nach dem Abkühlen mit 0,5 ml einer Lösung von 0,100 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 2 ml konz. Salzsäure versetzt. Man erwärmt nochmal 7 min auf 80° C, läßt abkühlen, verdünnt mit 10 ml Wasser und mißt die Extinktion bei 615 nm. Die Methode ist für Coffein spezifisch. Theobromin, Theophyllin und andere Purin- oder Pyrimidinbasen, sowie Alkaloide stören nicht; die Färbung ist noch bei einer Verdünnung von $1 : 2 \cdot 10^6$ in 10 mm Schichtdicke nachweisbar.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S. **14**, 79—81 (1959). Hôp. Stuivenberg, Antwerpen (Belgien). Ursula Baumann

Antibiotica. *Ein IR-spektrophotometrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Antibiotica Thiolutin und Aureothricin* geben A. Ito und O. Amakasu[1] bekannt. Die Spektralmessungen werden nach der Kaliumbromidmethode durchgeführt, die Schlüsselbanden liegen bei 973 und 943 cm^{-1}, der Fehler beträgt 1,6%. Das Original enthält die Eichkurven und IR-Absorptionsspektren beider Substanzen.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **79**, 223—225 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Coll. Pharmac., Oshika, Shizuoka (Japan). K. Söllner

Eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung des Antibioticums Cyclohexamid (Actidion, I) haben A. A. Forist und S. Theal[1] ausgearbeitet. — *Verfahren.* Man löst etwa 40 mg (genau gewogen) des Analysenmaterials in wasserfreiem Äthanol (Ä, gegebenenfalls vergällt), füllt mit diesem auf 25 ml auf, pipettiert 5 ml der Lösung in einen 50 ml-Meßkolben und mischt mit 3 ml eines Gemisches gleicher Teile einer 12,5%igen Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid in Methanol und einer Lösung von 12,5 g Natriumhydroxyd in 15 ml Wasser, die mit Methanol auf 100 ml aufgefüllt wurden. Dann stellt man den gut verschlossenen Kolben für 1 Std in ein Wasserbad von 50° C, verdünnt dessen Inhalt nach Abkühlung unter Schütteln mit Eisenperchlorat-Reagens (siehe unten) auf etwa 40 ml, läßt unter Lichtabschluß 10 min lang stehen, füllt mit dem Reagens auf 50 ml auf und ermittelt die Lichtabsorption des Reaktionsansatzes innerhalb 1 Std in einer 1 cm-Küvette bei 530 nm. Man wiederholt die Bestimmung mit einigen analog behandelten Ansätzen und vergleicht die gemessenen Extinktionen (A_{530}) mit denen von unter Einsatz von 5 ml I-Standardlösung (siehe unten) bzw. 2 ml I-Standardlösung und 3 ml Ä auf gleiche Weise gewonnenen Farbstofflösungen (a_{530}). Der Prozentgehalt von I in dem Analysenmaterial berechnet sich aus der Formel: $A_{530} \cdot 100/a_{530} \cdot$ Einwaage. — *Eisenperchloratreagens. Stammlösung.* Man schlämmt 800 mg Eisenpulver mit 3 ml Wasser an, gibt tropfenweise 10 ml 70%ige Perchlorsäure und 7 ml Wasser zu, erwärmt erforderlichenfalls zur Lösung der letzten Eisenreste und verdünnt die Lösung mit Ä auf 100 ml. *Reagens.* 40 ml der Stammlösung versetzt man mit 12 ml 70%iger Perchlorsäure und verdünnt allmählich unter Kühlung mit Ä auf 1000 ml. — *I-Standardlösung.* Man löst 55—60 mg I (genau gewogen) in Ä zu 25 ml.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1042—1044 (1959). Upjohn Co., Kalamazoo, Mich. (USA).

K. Söllner

Über die spektrophotometrische Bestimmung von Chlortetracyclin- und Tetracyclinhydrochlorid in pharmazeutischen Zubereitungen berichten F. S. Chiccarelli, M. H. Woolford und M. E. Avery[1]. In saurem Medium gehen beide Verbindungen beim Erhitzen in ihre Anhydroverbindungen über, welche sehr ähnliche Spektren besitzen. Die Bestimmung beider Verbindungen nebeneinander ist jedoch dadurch möglich, daß beim Erhitzen bei p_H 7,5 Chlortetracyclin in Isochlortetracyclin übergeführt wird, während Tetracyclin unter gleichen Bedingungen relativ stabil ist. — *Bestimmung von Chlortetracyclinhydrochlorid.* 2mal 10 ml Probelösung mit etwa 100 µg Chlortetracyclin/ml werden in zwei 50 ml-Meßkölbchen einpipettiert. Man gibt in den einen Kolben 12 ml 5 n Salzsäure, 15 ml Pufferlösung p_H 7,5 (178 g K_2HPO_4 und 22 g KH_2PO_4/l) sowie 2 ml frisch bereitete 10%ige Natriumhydrogensulfitlösung zu und stellt unter gelegentlichem Schütteln genau 7 min in ein kochendes Wasserbad. In den zweiten Kolben gibt man zur Herstellung eines Blindwertes 15 ml Pufferlösung sowie 2 ml Natriumhydrogensulfitlösung und stellt genau 5 min in das siedende Wasserbad. Dann versetzt man mit 12 ml 5 n Salzsäure und erhitzt nochmals 2 min. Sofort anschließend kühlt man Probe und Blindwert unter fließendem Wasser ab, füllt zur Marke auf und bestimmt die Lichtabsorption beider Lösungen bei 445 nm. — *Bestimmung von Tetracyclinhydrochlorid.* 2mal 5 ml Probelösung mit etwa 200 µg Tetracyclin/ml werden in 50 ml-Meßkölbchen mit 1 ml Natriumhydrogensulfitlösung sowie 10 ml Pufferlösung versetzt und genau 3 min in ein kochendes Wasserbad gestellt. Das zur Blindwertbestimmung dienende Kölbchen wird anschließend gekühlt, auf etwa 40 ml mit Wasser verdünnt und mit 6 ml 5 n Salzsäure versetzt. Nach Auffüllen mit Wasser zur Marke wird möglichst bald bei 434 nm gegen Wasser photometriert. In das andere Kölbchen gibt man 6 ml 5 n Salzsäure und stellt nochmals 5 min in das Wasserbad. Nach dem Abkühlen füllt man mit Wasser auf und bestimmt die

Extinktion bei 434 nm. — Die Herstellung der Probelösungen aus verschiedenen pharmazeutischen Produkten (Kapseln, Tabletten, Syrup, Salben usw.) wird im Original eingehend beschrieben.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **48**, 263—268 (1959). Amer. Cyanamid Co., Pearl River, N. Y. (USA). H. Garschagen

4. Analyse von biologischem Material

Wasserbestimmungen im Serum führt P. Paaby[1] vergleichend nach zwei verschiedenen Methoden durch, und zwar 1. durch 16 Std langes Trocknen von 0,5 ml Serum im Vakuum bei 70° C und 23 mm Quecksilber, 2. durch Titration nach K. Fischer mit elektrometrischer Endpunktsbestimmung. Die Trocknungsmethode liefert wenig streuende Werte, ist einfach zu handhaben, erfordert aber verhältnismäßig viel Zeit. Die Fischersche Methode ist nicht ganz so exakt, erfordert mehr Apparaturen und empfindliche Reagentien, die Ergebnisse liegen aber nach kurzer Zeit vor. Nach dem Fischer-Verfahren werden konstant um 0,2—0,3% höhere Resultate (bei etwa 91,5% H_2O-Gehalt) erhalten als nach der Trocknungsmethode.

[1] Scand. J. clin. Lab. Invest. **11**, 117—121 (1959). County Hosp. u. Municipal Hosp., Aalborg, (Dänemark). Ursula Baumann

Ein radiometrisches Bestimmungsverfahren von Natrium im Blutserum wird von J. Dobrowolski und N. Wyszyński[1] empfohlen. Es beruht auf der Isolierung des Natriums als Natriumzinkuranylacetat und Messung der Strahlungsintensität des Niederschlages mit einem Zähler für β- und γ-Strahlen. Unter den Versuchsbedingungen ist die Strahlungsintensität proportional dem Natriumgehalt. Die Bestimmungsfehler liegen im Bereich von 0—4%. Die Genauigkeit entspricht damit der der gravimetrischen Bestimmungsmethode. — *Ausführung.* Man mischt 0,1 ml Blutserum mit 0,9 ml Wasser, gibt 3 ml gesätt. alkoholische Zinkacetatlösung zu und stellt für 2 min in kochendes Wasser. Nach Ergänzen mit Äthanol auf das ursprüngliche Volumen (4 ml) wird filtriert. 2 ml des Filtrates versetzt man im Zentrifugierrohr mit etwa dem 10fachen Volumen der üblichen Zinkuranylacetatlösung, fügt Äthanol zu, bis ein Gehalt von 50% erreicht ist, zentrifugiert $^1/_2$ Std, saugt den Alkohol ab und wäscht einige Male mit je 3 ml 50%igem Äthanol, wobei der Alkohol jedesmal mit einer Capillare abgesaugt wird. Man trocknet das Rohr mit dem Niederschlag bei 105° C und überträgt den Niederschlag auf einen Aluminiumteller, wo er mit Hilfe eines Platindrahtes zu einer gleichmäßigen, möglichst dünnen Schicht ausgebreitet wird. Dann bringt man den Teller unter das Fenster des Strahlungsmeßgerätes und zählt die Impulse. In gleicher Weise werden Vergleichslösungen von NaCl (0,75 mg Na^+/ml) behandelt. Nach der Zählung kann man den Niederschlag in ein Wägegläschen überführen und zur Kontrolle wägen. Die verwendeten Gefäße sollen aus hochwertigem Glas bestehen, aus dem die Reagentien kein Natrium herauslösen können.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 207—213 (1959). [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Medizin. Akad. Szecin (Polen). A. Kurtenacker

Eine spektrochemische Analysenmethode zur Bestimmung von Magnesium, Chrom, Nickel, Kupfer und Zink in den roten Blutkörperchen und dem Plasma menschlichen Blutes haben L. M. Paixao und J. H. Yoe[1] ausgearbeitet. Mit einer Spritze mit Platin-Rhutenium-Nadel werden 50 ml Blut abgezogen. Um ein Koagulieren zu vermeiden, werden 1,6 mg Natriumheparin für 50 ml vor der Blutentnahme in die Spritze gegeben. Die Blutproben werden zentrifugiert, Plasma und Körperchen werden getrennt getrocknet und bei 465—475° C im Muffelofen

verascht. Nach dem Abkühlen werden 2 ml konz. Salpetersäure und 0,25 ml 30%ige Wasserstoffperoxydlösung zugegeben und zur Trockne eingedampft. Nach Zugabe von etwas Salzsäure wird erneut eingedampft und die Chloride werden mit 3fach dest. Wasser aufgenommen, 0,13 ml Molybdäntrioxydlösung (1,5 g Molybdäntrioxyd + 100 ml konz. Ammoniumhydroxyd/l) als Referenzelement hinzugefügt und auf 5 ml aufgefüllt. 0,35 ml bzw. 0,22 ml dieser Lösungen (für Cu 0,03 bzw. 0,05 ml) werden für die Plasma- bzw. Blutkörperchenanalyse auf mit Paraffin präparierte Graphitelektroden getropft und bei 130° C eingetrocknet. Diese Elektrode wird als Kathode in einem Gleichstromdauerbogen von 12 Amp. mit 6 mm Elektrodenabstand ohne Einbrennzeit abgebrannt. Mit einem ARL-2m-Gitterspektrographen mit 0,04 mm Spaltbreite werden die Spektren bei 35 sec Belichtungszeit aufgenommen. Ausgemessen werden die Linien Mg 2795,53, Cr 4254,34, Ni 3414,76 und Zn 3345,02 gegen die Mo 2816,15 und die Cu 3247,54 gegen die Mo 3208,83 Å. Die Verff. vergleichen ihre Meßergebnisse teilweise mit Ergebnissen anderer Verfahren und auch anderer Autoren und finden eine gute Übereinstimmung.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 507—514 (1959). Univ. Charlottesville, Va. (USA). F. Rosendahl

Ein Schnellbestimmungsverfahren von Calcium in 0,1 ml Blutserum haben H. D. Appleton, M. West, M. Mandel und A. M. Sala[1] durch Modifizierung der Methode von D. N. Baron und J. W. Bell[2] ausgearbeitet. Man titriert direkt mit ÄDTA-Lösung bei p_H 12,66 unter Zusatz von „Calcein" als Indicator. Die Pufferlösung wird durch Mischen von 200 ml 0,1 m Glycinlösung (7,507 g/l) mit 800 ml 0,1 n Natronlauge hergestellt. Als Indicator dient eine fein gepulverte Mischung von 200 mg Calcein und 20 g Kaliumchlorid (A); und dieselbe Mischung bei Zusatz von 120 mg Thymolphthalein[2](B). — Man versetzt zur Calciumbestimmung 0,1 ml Blutserum mit 3 ml der Pufferlösung und wenig Indicatorpulver. Bei Zusatz von Indicator A fluoresciert die Lösung grün, bei Zusatz von B ist sie grün gefärbt. Man titriert aus einer 5 ml-Mikrobürette mit 0,01 ml-Teilung im diffusen Lichte einer Tageslichtlampe mit ÄDTA-Lösung/0,093 g des Dinatriumsalzes/l; 1 ml dieser Lösung ≙ 0,01 mg Ca). Bei Indicator A geht die grüne in eine rote Fluorescenz, bei B die Grün- in eine Purpurfärbung über. — Auch in *Urin* läßt sich so das Calcium titrieren, wenn zunächst mit Salzsäure angesäuert und sonst wie oben gearbeitet wird.

[1] Clin. Chemistry **5**, 36—44 (1959). Metropolitan Hosp., New York (USA). — [2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 327 (1957); vgl. diese Z. **162**, 225 (1958).

Klaus Brodersen

Eine Veraschungsmethode von organischem Material ohne Verflüchtigung von Zink und die Bestimmung des Zinks nach einer Dithizonmethode beschreiben W. A. C. Campen und H. Dumoulin[1]. Um einen Verlust an Zink durch Verdampfung zu vermeiden, binden sie das Zink, indem sie die Probe mit Monocalciumphosphat $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ vermischen, das sich mit Zink umsetzt und bei hohen Temperaturen polymerisiert. Etwa anwesendes Kupfer kann in Gegenwart von Phosphaten bei der für die Zinkbestimmung nach der AOAC-Dithizon-Methode vorgeschriebenen Normalität von 0,016 einer starken Säure nicht entfernt werden; die Verff. neutralisierten deshalb mit Ammoniumcitrat bis zu p_H 1,8—2,0. Der störende Einfluß von Mangan wird durch Zugabe von ÄDTA aufgehoben, durch Zufügen eines Calciumsalzes wird eine Zinkkomplexbildung verhindert. — *Ausführung.* 10 g Substanz werden mit 3—4 g Monocalciumphosphat vermischt, 1 Std bei 140° C getrocknet, 1 Std auf 400° C erhitzt, 1 Std bei 600° C, unter Umständen bis zu 900° C, verascht. Man löst dann die weiße, langsam abgekühlte Masse in 100 ml 3 n Salzsäure, ergänzt mit Wasser auf 250 ml und filtriert. 50 ml dieser Lösung,

die etwa 50 μg, höchstens aber 80 μg Zn enthält, versetzt man dann mit Citratpuffer (siehe unten) und verdünnt bis etwa p_H 1,8. Nach Auffüllen mit Wasser auf 100 ml pipettiert man 25 ml ab (etwa 12,5 μg Zink enthaltend), entfernt etwa vorhandenes Kupfer mit insgesamt 15,5 ml konz. Dithizonlösung (siehe unten) und schüttelt mit 5 ml Chloroform durch. Zu 5 ml der wäßrigen Lösung fügt man darauf 15 ml Citratpuffer, 1 ml Diäthyldithiocarbaminatlösung (1,25 g/l) und 1 ml ÄDTA-Gemisch (siehe unten), extrahiert daraus das Zink mit 10 ml verd. Dithizonlösung (siehe unten), entfernt überschüssiges Dithizon mit Anteilen von 20 ml Natriumsulfidlösung (siehe unten), bis der wäßrige Extrakt farblos ist. Dann mißt man die Lichtabsorption der rotvioletten Lösung bei 515 mμ und vergleicht mit einer Lösung bekannten Zinkgehaltes. — *Citratpuffer.* 173 g Citronensäure und 537 ml 10%ige Ammoniaklösung füllt man mit Wasser zu 1000 ml auf. — *ÄDTA-Gemisch.* Man vermischt 10 ml 0,5 m ÄDTA-Lösung mit 5 g Monocalciumphosphat und 10 ml 1 n Salzsäure und füllt zu 100 ml auf. — *Konz. Dithizonlösung.* Man löst 200 mg Dithizon in 500 ml Chloroform und reinigt durch 2maliges Ausschütteln mit 50 ml 1 n Salzsäure und anschließendes Waschen mit 50 ml Wasser. — *Verd. Dithizonlösung.* Man verdünnt vor Gebrauch 5 ml konz. Lösung mit 160 ml Chloroform und reinigt mit 150 ml 1 n Salzsäure und 150 ml Wasser. — *Natriumsulfidlösung.* Man verdünnt kurz vor Gebrauch 5 ml einer 4%igen $Na_2S \cdot 9\,H_2O$-Lösung auf 250 ml.

[1] Chem. Weekbl. **55**, 632—633 (1959). Rijkslandbouwproefstation, Maastricht (Holland). Liselott Johannsen

Polarographische Bleibestimmung im Urin. Im Urin an Plumbismus leidender Patienten, die mit Ca-ÄDTA behandelt werden, ist das Blei als Pb-ÄDTA komplex gebunden und daher nur in stark saurer Lösung polarographisch wirksam, in der der Komplex nicht beständig ist. Die polarographische Bestimmung ist aber nicht ausführbar, da die Stufen wegen der Anwesenheit von Störsubstanzen schlecht ausgebildet und ihre Höhen nicht meßbar sind. Nach Untersuchungen von J. Chmielowsky und Z. Myslak[1] lassen sich die Störungen beseitigen, wenn man den stark angesäuerten Urin einen Ionenaustauscher in der H^+-Form passieren läßt. Bleigehalte von 20—30 μg-% und darüber können auf diese Art mit Fehlern von $\pm$ 6,5% erfaßt werden. — *Ausführung.* Man läßt Wofatit P (Korngröße 0,5 mm) 24 Std in Wasser quellen und füllt ihn dann 15 cm hoch über einem Glaswollpfropfen in eine Hahnbürette ein. Zur Überführung in H^+-Form (oder zur Regenerierung) läßt man 250 ml 4%ige Salzsäure durch die Säule fließen und wäscht mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gegen Methylorange. 3 ml des zu untersuchenden Urins werden mit 2 ml 8%iger Salzsäure gemischt. Das Gemisch läßt man mit der Geschwindigkeit 0,3 ml/min durch die Säule fließen. Das Blei geht quantitativ (Verlust maximal 2%) in das Eluat. Man bringt 2 ml in die Polarographierzelle, leitet 2 min CO_2 durch und polarographiert von —0,2 bis —0,8 V (gemessen gegen die Bodenelektrode).

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 233—239 (1959). [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Arbeitsmedizin. Inst. Bergwerks- u. Hüttenind. Zabrze (Polen). A. Kurtenacker

Einen Vergleich der spektrophotometrischen[1] Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Blutes mit der manometrischen[2] Methode ziehen A. Holmgren und B. Pernow[3]. Beide Methoden liefern brauchbare Werte, obgleich die spektrophotometrisch gemessenen etwas höher liegen. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß viel weniger Blut gebraucht wird.

[1] Drabkin, D. L., u. C. F. Schmidt: J. biol. Chemistry **157**, 69 (1945). — Nahas, G. G.: Amer. J. Physiol. **163**, 737 (1950); Science **113**, 723 (1951). — [2] van Slyke, D. D., u. J. M. Neill: J. biol. Chemistry **61**, 552 (1924). — [3] Scand. J. clin. Lab. Invest. **11**, 143—149 (1959). Karolinska sjukhuset, Stockholm (Schweden).

Ursula Baumann

Über die Abtrennung und Bestimmung von Millimikrogramm-Mengen Kobalt und Mikrogramm-Mengen Kupfer im Blut berichten A. Smoczkiewiczowa und W. Mizgalski[1]. Das Verfahren beruht darauf, daß Co und Cu zunächst papierchromatographisch von anderen in der Blutasche vorhandenen Elementen getrennt und dann durch Emissionsspektrographie mit Silberelektroden bestimmt werden. Gemessen werden die Schwärzungen der Linien 3453,5 Å für Co und 3247,5 Å für Cu. 35—50 mμg Co und 9—22 μg Cu in 100 g Blut können noch mit Streuungen von weniger als 10% erfaßt werden. Die Werte stimmen mit den Gehaltsangaben anderer Autoren überein. — *Ausführung.* 10 ml Blut werden 6 Std bei 105° C getrocknet. Der Rückstand wird zunächst 2 Std auf 300° C, dann 12 Std auf 450° C erhitzt. Die verbliebene Asche wird auf dem Wasserbade in 2 ml Salpetersäure und 6 ml Salzsäure gelöst, die Lösung zur Trockne verdampft und der Rückstand in 1 ml Salzsäure aufgenommen. Wenn noch dunkle ungelöste Teilchen vorhanden sind, filtriert man in ein kleines Papierfilter, trocknet, verascht, löst die Asche in Salpeter-Salzsäure und vereinigt mit der oben erhaltenen Lösung. Man überträgt dann die Lösung tropfenweise mit jeweiliger Zwischentrocknung auf einen Bogen (14,5 × 20,0 cm) Whatman-Papier Nr. 1 3 cm vom Rand entfernt und chromatographiert aufsteigend mit 25%iger Ammoniaklösung. Eisen bleibt als Hydroxyd am Startpunkt, während Co und Cu als Ammine mit der Lösungsmittelfront wandern. Wenn diese eine Höhe von 10—12 cm über der Startlinie erreicht hat, trocknet man das Chromatogramm. Parallel zur Probe läßt man Kontrollösungen von Co^{2+} und Cu^{2+} (1 mg je 100 ml) mitlaufen und macht die Flecken mit α-Nitroso-β-naphthol sichtbar. Für die spektralanalytische Bestimmung wird ein Streifen von 2—3 cm Breite ausgeschnitten. Ein darunterliegender ebenso breiter Streifen dient als Kontrolle. Jeder Streifen kommt auf ein Blech aus Elektrolytsilber und wird über der Reduktionsflamme eines Bunsenbrenners verbrannt. Das Blech dient dann als Elektrode. Zweite Elektrode in 7 mm Entfernung ist ein Silberstab. Man belichtet 10 sec mit 150 μ Spaltbreite und nimmt (im Spektrograph ISP 22) das Spektralgebiet von 2500 bis 7000 Å auf. Nach dem Entwickeln mit alkoholischer Hydrochinonlösung unter definierten Bedingungen mißt man die Schwärzungen der Linien 3453,5 Å (Co) und 3247,5 Å (Cu), und vergleicht mit dem benachbarten Untergrund. Ausgewertet wird mit Hilfe von gleichartig gewonnenen Schwärzungen bekannter Co und Cu-Mengen.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 219—224 (1959). [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Balneoklimat. Inst. u. Medizin. Akad. Poznań (Polen). A. Kurtenacker

Die Polarographie ist oft zur direkten Bestimmung von Drogengehalten in biologischen Flüssigkeiten geeignet, wie P. O. Kane[1] in einer kurzen Mitteilung berichtet. Eine besondere Anreicherung oder Trennung von Beimengungen ist dabei nicht erforderlich. Insbesondere läßt sich z. B. *2-Äthyl-4-thiocarbamidopyridin* (1314 TH, ein Anti-Tuberkulosemittel) in *Serum*, *Cerebrospinalflüssigkeit* oder *Urin* direkt polarographisch bestimmen, wenn mit einer Silberdrahtanode gearbeitet und die Stufe bei $E_{1/2} = -0{,}78$ V bei p_H 7 (gegen die gesätt. Kalomelelektrode) gemessen wird. In Blindproben (*Ratten-* und *Humanserum*) tritt unter diesen Bedingungen zwischen —0,2 und —0,7 V keine Stufe auf, oft ist das Polarogramm sogar zwischen —0,1 und —1,1 V frei von Stufen (*Kaninchen-* und *Pferdeserum*). Es muß nur von Sauerstoff befreit sein. Leitsalzzusätze sind nicht erforderlich. Urinproben müssen durch Zusatz von 5% Eisessig angesäuert werden. — Es wird darauf hingewiesen, daß auch *Pyrazin-2-carboxyamid*, einige *Nitrofuranderivate*, *Isonicotinhydrazid* und *Terramycin* in ähnlicher Weise direkt analysiert werden können.

[1] Nature (London) **183**, 1674 (1959). May & Baker Ltd., Dagenham, Essex (England). K. Cruse

Eine Methode zur schnellen Bestimmung kleiner Mengen organischer Basen im Urin beschreibt P. J. MORGAN[1]. Der Urin wird mit Chloroform extrahiert und die Basen auf Filterpapier, das mit Schwefelsäure imprägniert ist, niedergeschlagen. Zur Identifizierung der einzelnen Substanzen können die Streifen papierchromatographisch aufgearbeitet werden: — *Arbeitsweise.* Die Urinprobe wird mit 20%iger Natronlauge auf ein p_H gebracht, das je nach Art der abzuscheidenden Substanz variiert (für Morphin und verwandte Stoffe ist p_H 9 am günstigsten, stärkere Basen mit gleicher Löslichkeit in Chloroform erfordern ein höheres p_H, gleichstarke mit besserer Löslichkeit ein niedrigeres). Man rührt die Lösung vorsichtig in $^1/_5$ ihres Volumens an Chloroform ein und leitet 20 min einen Stickstoffstrom (höchstens 50 ml/min) durch die Chloroformschicht, die danach abgetrennt und durch ein trockenes Filter in das Untersuchungsgefäß *D* (siehe Abb. 1) filtriert wird. In den Extrakt hängt man einen Streifen Whatman 3 MM-Papier (*E*), den man vorher entsprechend vorbereitet hat (siehe unten) und schickt nun einen Stickstoffstrom hindurch, der in *A*

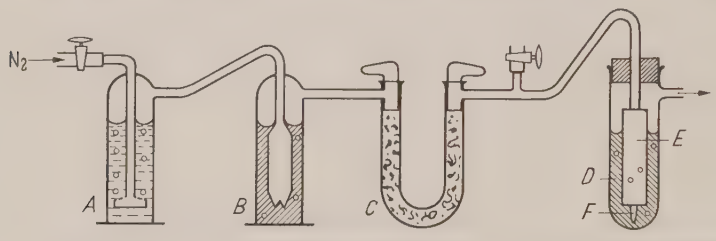

Abb. 1 Apparatur zur papierchromatographischen Bestimmung organischer Basen nach MORGAN

durch Chromsulfatlösung (siehe unten) von Sauerstoff befreit, in *B* mit konz. Schwefelsäure getrocknet und in *C* über Silicagel (Falle für Säuretröpfchen) geleitet wird. Die Austrittsdüse *F* soll fein sein, der Gasstrom 100 ± 50 ml/min bei 20 ml Extrakt betragen. Bei Alkaloidkonzentrationen von 1 µg/ml ist die Abscheidung nach 15 min beendet, bei niedrigeren Konzentrationen kann entweder die Versuchsdauer verlängert oder der Streifen zwischendurch gewechselt werden. Man nimmt den Streifen heraus, trocknet ihn im Luftstrom und bringt ihn in eine Ammoniak-Atmosphäre, bis die Flecke gelb oder blau werden (15 sec). Das überschüssige Ammoniak entfernt man im Luftstrom und unterwirft die Streifen zur Differenzierung einer aufsteigenden Chromatographie[2]. Für die meisten Alkaloide eignet sich die organische Phase des Lösungsmittelgemisches von 50 ml n-Butanol, 10 ml konz. Salzsäure und 20 ml Wasser. Die R_f-Werte liegen zwischen 0,2 und 0,8. Die *Alkaloide* werden mit dem Jodplatinat-Reagens sichtbar gemacht (20 ml 5%ige Platinchlorwasserstoffsäure + 250 ml 4%ige Kaliumjodidlösung + 200 ml Wasser; je 47 ml Reagens 3 ml konz. Salzsäure). Man erhält violette bis blaue Flecke auf rosa Grund. Zur Isolierung einiger *sympathomimetischer Amine (Amphetamin, Ephedrin)* eignet sich ein Gemisch von 20 ml Isobutylmethylketon, 10 ml Essigsäure und 5 ml Wasser am besten. Das Chromatogramm wird mit Bromkresolgrün in äthanolischer Lösung besprüht. Es zeigen sich blaue Flecke auf gelbgrünem Grund. — *Vorbereitung der Papierstreifen.* Das Papier wird zunächst vor Gebrauch mit Chloroform und Wasser gewaschen. Auf einen Streifen (7 × 1,5 cm) tropft man 2 cm vom Ende entfernt 0,25 n und 0,5 n Schwefelsäure auf, wobei die Säureflecken einen Durchmesser von 3—5 mm haben sollen. Es ist vorteilhaft, wenn die Schwefelsäure Thymolblau-Indicator enthält; man bereitet diese Lösungen, indem man je 4 mg Thymolblau in 0,5 g bzw. 1,0 g konz. Schwefelsäure auflöst, über Nacht stehen läßt und dann auf 40 ml verdünnt. — *Chromsulfatlösung.* Man löst in der Waschflasche (*A*) 12 g

Kaliumchromsulfat in 50 ml Wasser, gibt 5 ml konz. Schwefelsäure zu, dann 10—15 g zerstoßenes Eis zur Kühlung und versetzt mit 3 g Zinkstaub. Die überstehende Luft wird durch Stickstoff vertrieben. Die Lösung muß schwach blau sein.

[1] Analyst **84**, 418—422 (1959). Univ. Melbourne (Australien). — [2] Rockland, L. B., and M. S. Dunn: Science **109**, 539 (1949); vgl. diese Z. **125**, 59 (1952).

Ursula Baumann

Über die Analyse von Harnwegkonkrementen mit der Infrarotspektroskopie berichten M. Weissman, B. Klein und J. Berkowitz[1]. Die Konkremente oder, wenn möglich, ihre gegebenenfalls vorhandenen einzelnen Zonen gelangen möglichst fein pulverisiert als Kaliumbromidpreßlinge zur Untersuchung. Verff. geben die Spektren der am Aufbau von Harnkonkrementen beteiligten Verbindungen, ihrer Gemische und die typischer Konkremente wieder. Man erhält mit der Methode schnell Auskunft über die Zusammensetzung der Steine.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1334—1338 (1959). Veterans Admin. Hosp., Bronx, N.Y. (USA). E. Müller, Würzburg

Für die Blutzuckerbestimmung haben K. Takiura und K. Koizumi[1] im Rahmen einer Reihe von Untersuchungen zur Polarographie von Glykolen in einer 2. Mitteilung[2] die Umsetzung mit Kaliumperjodat und Auswertung seiner 1. Stufe im Polarogramm empfohlen. — *Arbeitsvorschrift.* Die Blutprobe wird mit isotonischer Phosphatpufferlösung (p_H 7) vermischt, die Blutkörperchen werden abzentrifugiert. 1 ml der klaren Lösung (0,1 ml Blut entsprechend) wird dann 0,5—2 Std mit 10 ml Sörensen-KJO_4-Pufferlösung (10^{-3} m, p_H 7,0) umgesetzt (bei 25 ± 0,1° C) und anschließend polarographiert. Die Stufenhöhe wird mit derjenigen einer Blindprobe verglichen. Die Resultate stimmen mit Analysen nach Hagedorn-Jensen und nach der Anthron-Methode gut überein.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **79**, 809—814 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Osaka (Japan). — [2] 1. Mitteilung: J. pharmac. Soc. Japan **78**, 961 (1958); vgl. diese Z. **171**, 227 (1959/60). K. Cruse

Eine Methode zur Bestimmung der Glyceride im Blutserum geben L. A. Carlson und L. B. Wadström[1] an. Die Glyceride werden von den Phosphatiden, die an Kieselsäure adsorbiert werden, getrennt, verseift, und das Glycerin wird nach einem modifizierten Verfahren von M. Lambert und A. O. Neish[2] festgestellt, wobei Glycerin mit Perjodsäure oxydiert und der Formaldehyd bestimmt wird. Die Methode eignet sich für Routineuntersuchungen und gibt reproduzierbare Werte. — *Ausführung.* In ein 25 ml-Meßkölbchen gibt man 8 ml Methanol, pipettiert 1 ml Serum hinein, setzt 8—10 ml Chloroform hinzu und bringt unter Schütteln auf dem Dampfbad gerade zum Kochen. Nach dem Abkühlen füllt man mit Chloroform zur Marke auf, mischt und filtriert schnell. 20 ml Filtrat gibt man in einen Scheidetrichter und schüttelt 30 sec mit 8 ml isotonischer Natriumchloridlösung. Die Phasen läßt man sich mehrere Stunden, am besten über Nacht, trennen, zapft die Chloroformphase ab, spült mit etwa 1 ml Chloroform und dampft das Chloroform auf etwa 2 ml ab. Man gibt diese Lösung auf die Säule (siehe unten) und eluiert die Glyceride direkt in ein 25 ml-Meßkölbchen mit Chloroform bis zur Marke. In Doppel- oder Dreifachansätzen pipettiert man aliquote Mengen des Chloroformeluates, die 5—20 μg Glyceridglycerin enthalten (gewöhnlich 3 ml), in 25 ml-Kölbchen, dampft das Chloroform auf dem Dampfbad ab, setzt 1 ml 95%igen Äthylalkohol und 1 Tr. 2,5%ige Kalilauge zu, schüttelt, verseift 30 min bei 60° C, säuert mit 2 Tr. 6%iger Essigsäure an und bringt auf dem Dampfbad gerade zur Trockne. Nach Zugabe von etwa 10 ml Petroläther bringt man auf dem Dampfbad zum Kochen, pipettiert 1 ml 0,67 m Schwefelsäure ein, schüttelt sorgfältig und

dekantiert den Petroläther. 0,3 ml der schwefelsauren Lösung pipettiert man in Doppelansätzen in 10 × 100 mm große Reagensgläser, setzt 0,1 ml 0,02 m Perjodatlösung (1,25 g Perjodsäure in 225 ml Wasser lösen und gegen Methylrot mit 0,2 n Natronlauge neutralisieren) zu, schüttelt und läßt 10 min stehen. Nach Zugabe von 0,1 ml 0,2 m Natriumarsenitlösung [1,8 g Natriumhydroxyd und 4 g Arsen(III)-oxyd in 200 ml Wasser lösen] schüttelt man wieder und läßt ungefähr 5 min stehen. Aus einer automatischen Pipette gibt man unter Ausschaltung direkten Tageslichtes in jedes Glas 2,5 ml Chromotropsäurereagens (300 ml konz. Schwefelsäure mit 150 ml Wasser mischen, kühlen; 1 g Chromotropsäuredinatriumsalz in 100 ml Wasser lösen, filtrieren und zur Säure geben; in dunkler Flasche aufbewahren) hinzu, schüttelt und setzt für 30 min in ein siedendes Wasserbad. In 1 cm-Küvetten mißt man die Extinktion bei 570 nm. Tripalmitinstandardansätze und Blindwerte laufen mit. — *Chromatographiesäulen.* 400 mg 12 Std bei 120° C aktiviertes Kieselsäurepulver mischt man mit 200 mg Hyflo Supercel, schlämmt in 4 ml Petroläther an, füllt in Rohre mit 7 mm Innendurchmesser und wäscht mit Chloroform.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 197—205 (1959). Karolinska Sjukhuset, Stockholm (Schweden). — [2] Can. J. Research. **28B**, 83 (1950).

E. Müller, Würzburg

Radiometrische Ultramikrobestimmung von Harnstoff in Blut. M. Herbain und D. Bertin[1] wenden die von L. Velluz, D. Bertin, M. Pesez und R. Berret[2] angegebene radiometrische Harnstoffbestimmung auf Blut an. Der Harnstoff wird hierbei mit Xanthin, welches in 9-Stellung mit ^{14}C markiert ist, gefällt und das Harnstoffderivat des Xanthins radiometrisch gemessen: Zu 0,1 ml Blut gibt man 0,7 μl dest. Wasser und 0,2 μl Reagens nach Tanret-Polonovski [Lösung von 1,0 g Calciumacetat, 2,71 g Quecksilber(II)-chlorid, 7,20 g KJ und 67 ml Eisessig in 100 ml dest. Wasser] und etwa 200 mg Glaskügelchen (Durchmesser 0,3—0,4 mm), schüttelt heftig durch und zentrifugiert vom denaturierten Protein bei 4000 U/min 5 min lang. Von der so erhaltenen klaren Lösung pipettiert man 0,5 ml in ein Reagensglas (7 × 1 cm), gibt 0,5 ml Eisessig und 0,04 ml gesätt. methanolische Lösung markierten Xanthins zu. Nach 10 bzw. 20 min gibt man nochmals 0,03 ml gesättigte Xanthinlösung zu, rührt mit einem Glasstab um und läßt 3 Std stehen. Der danach ausgefallene Niederschlag wird filtriert, das Reagensglas und der Glasstab werden mit 0,2 und 0,5 ml gesätt. Xanthinlösung gewaschen. Nachdem der auf der Spezialfilternutsche (Typ Durieux-filtration lente) gesammelte Niederschlag nochmals mit 0,2 und 1,0 ml Xanthinlösung gewaschen und zur Trockne gesaugt worden ist, läßt man an der Luft trocknen und mißt mit einem Geiger-Müller-Zählrohr die Aktivität des Niederschlages. Aus den Impulsen lassen sich mittels Eichkurven die Harnstoffkonzentrationen berechnen.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 621—632 (1959). Services de Recherches Roussel-Uclaf, Romainville (Seine). — [2] C. R. Acad. Sci. **246**, 3071 (1958). E. Bayer

Aminosäuren. *Über die Reinigung von Aminosäuren aus Pflanzen für die Papierchromatographie* berichten J. F. Thompson, C. J. Morris und R. K. Gering[1]. Um Substanzen, die bei der papierchromatographischen Bestimmung von Aminosäuren stören, zu entfernen, adsorbieren Verff. die basischen Aminosäuren an Dowex 50, NH_4^+-Form, und die anderen an die H^+-Form, die beide hintereinander geschaltet sind. Die Aminosäuren werden in beiden Fällen mit Ammoniak eluiert. Man erhält so bei der papierchromatographischen Bestimmung der Aminosäuren in Standardlösungen, Eiweißhydrolysaten und Pflanzenextrakten befriedigende Werte.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1028—1031 (1959). U. S. Dept. Agric., Ithaca, N. Y. (USA). E. Müller, Würzburg

Über die Bestimmung von Aminosäuren aus Pflanzen durch Papierchromatographie berichten J. F. Thompson und C. J. Morris[1]. In sehr eingehenden und ausführlichen Beschreibungen und Besprechungen geben Verff. Vorschriften an, nach denen es gelingt, die in Pflanzen frei vorkommenden Aminosäuren sowie die durch Hydrolyse von Pflanzeneiweiß gewonnenen papierchromatographisch zu bestimmen. Es handelt sich um ein- und zweidimensionale absteigende Verfahren, die sich an bekannte anlehnen. Man erhält reproduzierbare Werte, die mit denen bewährter Methoden übereinstimmen. Die Ergebnisse sind in Tabellen zusammengestellt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1031—1037 (1959). U. S. Dept. Agric., Ithaca, N. Y. (USA). E. Müller, Würzburg

Über die papierchromatographische Bestimmung der Aminosäuren im Gewebewasser der Augen von Menschen und Kaninchen berichtet A. Sinha[1]. 0,1—0,2 (Kaninchen) bzw. 0,3—0,6 ml (Menschen) Flüssigkeit werden enteiweißt, indem man mit 0,5 bzw. 1,0 ml Äthanol versetzt, zu 1,0 bzw. 2,0 ml mit Wasser auffüllt und 20 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Zum Chromatographieren benutzt man eine Zirkularkammer von 35,5 cm ⌀ und arbeitet nach der von Mitra und Chatterjee[2] angegebenen Technik. Die überstehende Lösung wird nach 30 min auf die Mitte eines Whatman-Filters Nr. 1 (30 cm ⌀) aufgebracht, wobei bei 2 ml Aufgabe ein Flecken von etwa 1 cm ⌀ entstehen soll. Nach Trocknen an der Luft wird 3 Std bei 25° C chromatographiert, indem als Fließmittel n-Butanol-Eisessig-Wasser (5:1:4) und mit Phenol gesätt. Ammoniaklösung zum Sättigen der Gasphase verwendet wird. Nach dem Trocknen wird das Rundfilter 6 Std auf 45° C erwärmt und anschließend das Chromatogramm mit Ninhydrin-Reagens (nach S. Moore und W. H. Stein[3], siehe unten) besprüht und 20 min bei 45° C getrocknet. Die Flecken werden im ultravioletten, sichtbaren und infraroten Licht betrachtet und an Hand von Vergleichschromatogrammen visuell ausgewertet. Folgende Aminosäuren wurden in dem Augenwasser nachgewiesen und quantitativ (Tabelle im Original) bestimmt: *Alanin, Leucin, Valin, Serin, Histidin, Tyrosin, Threonin, Arginin* und *Methionin*. — *Ninhydrinreagens.* Das Reagens besteht aus gleichen Teilen einer Pufferlösung (13,3 g Citronensäure, 100 ml 1 n Natronlauge und 400 mg $SnCl_2$ in Wasser zu 250 ml gelöst) und einer 4%igen Ninhydrinlösung in Methylcellosolve, die kurz vor Gebrauch gemischt werden.

[1] Indian J. appl. Chem. **22**, 92—93 (1959). Med. College, Agra. — [2] J. Proc. Inst. Chem. India, **30**, 1161 (1958). — [3] J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948); vgl. diese Z. **135**, 206 (1952). H. Garschagen

Über die säulenchromatische Trennung von 2,4-Dinitrophenyl-(DNP)-aminosäuren und Peptiden an Polyamidsäulen berichten H. Hörmann und H. von Portatius[1] in Fortsetzung früherer Arbeiten[2]. Die Affinität dieser Verbindungen zu Polyamid ist sehr stark, so daß die anschließende Eluierung Schwierigkeiten bietet. Es gelang den Verff., durch das Lösungsmittelgemisch Dimethylformamid-Eisessig-Wasser-Äthanol (5 : 10 : 30 : 20) (bzw. 8 : 15 : 25 : 20) DNP-Aminosäuren an einer Polycaprolactamsäule als schmale Banden mit mittlerer Wanderungsgeschwindigkeit zu eluieren und Trennungen durchzuführen. Die R_f-Werte einer Anzahl von DNP-Aminosäuren, bezogen auf O,N-bis-DNP-Tyrosin = 1,0, sind in einer Tabelle zusammengestellt.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **315**, 141—144 (1959). Max-Planck-Inst. Eiweiß- und Lederforsch., München. — [2] Zum Beispiel Oppelt, M.: Diss. München 1958. H. Garschagen

Trennung von Phosphopeptiden. J. Schormüller und K. Lehmann[1] haben die kontinuierliche Ablenkungselektrophorese den Erfordernissen der Phosphopeptidfraktionierung angepaßt und die Versuchsdurchführung in folgender Weise gestaltet: Eine 10%ige Lösung des Phosphopeptidgemisches in 1 n Essigsäure wird auf den p_H-Wert 2,4—2,5 eingestellt und mittels einer Dosierpumpe mit 0,033 ml/Std auf die Mitte des Trennbogens (Schl. & Sch. 2040a) im „Elphor Va" aufgegeben. Die Laufzeit der Substanzen liegt unter diesen Bedingungen bei 7—8 Std für die zur Verfügung stehende Strecke von 30 cm. Bei Elektrolyse mit 500 V (9—10 Milliamp.) über etwa 20 Std tritt gute Trennung ein. Die phosphorreichen Peptide wandern als Anionen zur Anode. Peptide mit sehr geringem Phosphorgehalt werden kaum abgelenkt oder wandern sogar zur Kathode. Die Auftrennung eines „Reinpepton Nr. 4" nach dieser Vorschrift liefert 4 Hauptfraktionen, deren Charakter als unterschiedliche Phosphopeptide durch Bestimmen der *Aminosäure-Phosphorsäure*-Verhältnisse gesichert wird. Hierzu wird 1 ml Fraktion mit 2 ml 10 n Schwefelsäure 24 Std verschlossen bei 110° C hydrolysiert, Phosphor nach C. H. Fiske und Y. Subbarow[2], der *Gesamtaminosäuregehalt* mit Ninhydrin nach S. Moore und W. H. Stein[3] bestimmt. Das Reinpepton liefert außerdem eine schnelle, phosphorfreie kathodische Fraktion.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **110**, 363—366 (1959). Techn. Univ. Berlin. — [2] J. biol. Chemistry **66**, 375 (1925); vgl. diese Z. **85**, 110 (1931). — [3] J. biol. Chemistry **211**, 907 (1954); vgl. diese Z. **148**, 305 (1955/56). K. Cruse

Über die Bestimmung von Glycin im Glycinkaliumtrioxalatochromat(III) berichtet G. H. Spaulding[1]. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von W. A. Schroeder, L. M. Kay und R. S. Mills[2], die auf dem Verfahren von C. C. Pope und M. F. Stevens[3] beruht, bei dem der Kupfergehalt des Aminosäurekupferkomplexes jodometrisch bestimmt wird. Verff. erzeugt in der Lösung des Glycinkaliumtrioxalatochromat(III)-komplexes, durch den Glycin von anderen Aminosäuren spezifisch abgetrennt werden kann[4], in Boratpufferlösung von p_H 9,1 mit einer Kupferphosphatsuspension Glycinkupfer. Dies trennt er vom Kaliumtrioxalatochromat(III) über Amberlite IR-400 (OH-Form), das den Komplex zurückhält, ab. Im Eluat wird Glycinkupfer jodometrisch mit der Dead stop-Methode bestimmt. Die Methode ist ebenso genau wie die übliche Bestimmung nach Kjeldahl, aber wesentlich schneller.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1109—1110 (1959). Morgan State College, Baltimore, Md. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **22**, 760 (1950); vgl. diese Z. **134**, 229 (1951/52). — [3] Biochemic. J. **33**, 1070 (1939). — [4] Bergmann, M.: J. biol. Chemistry **109**, 317 (1935). E. Müller, Würzburg

Verbesserungen der Methode zur Bestimmung von Hydroxyprolin teilen C. Mitoma, T. E. Smith, J. D. Davidson, S. Udenfriend, F. M. DaCosta und A. Sjoerdsma[1] mit. Von den beiden gebräuchlichen Methoden ist die von R. E. Neuman und M. A. Logan[2] zu wenig spezifisch und die von O. Wiss[3] ist zwar spezifisch, gibt aber einen unbeständigen Farbkomplex. Die Spezifität der ersten Methode erhöhen Verff. dadurch, daß sie die im Verlauf des Verfahrens entstehende Pyrrol-2-carbonsäure mit Äther extrahieren und vom störenden Tyrosin und Tryptophan trennen. Bei der zweiten erreichen sie Farbstoffstabilität durch Erhöhen des p_H-Wertes. — *Ausführung* nach Neuman-Logan. 2 ml, die bis zu 50 μg Hydroxyprolin enthalten können, versetzt man in einem Schüttelglas mit je 1 ml 2,5 n Natronlauge, 0,01 m Kupfersulfatlösung und 6%iger Wasserstoffperoxydlösung, läßt 5 min stehen und entfernt den Wasserstoffperoxydüberschuß durch 5 min langes Erhitzen in einem Wasserbad von 80° C. Nach Abkühlen setzt man

0,5 ml 6 n Schwefelsäure zu, erhitzt 10 min in einem Wasserbad von 60° C, kühlt und extrahiert mit 15 ml Äther. 10 ml Ätherphase schüttelt man in einem anderen Schüttelglas mit 3 ml 0,1 n Natronlauge und entfernt nach Trennung die Ätherschicht durch Absaugen. 2 ml Wasserphase versetzt man mit 3 ml reiner 2:1 Mischung von 3 n Schwefelsäure mit einer 5%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in n-Propanol und erhitzt 16 min auf 70° C. Nach Abkühlen mißt man die Extinktion bei 540 nm. Bei Standardlösungen von Hydroxyprolin ist die Konzentration (0—50 μg) eine lineare Funktion der Extinktion. — Nach Wiss. 5 ml, die 2—10 μg Hydroxyprolin enthalten, gibt man in einen 50 ml-Rundkolben und fügt je 0,5 ml gekühlte 10%ige Natriumcarbonatlösung und Hypochloritlösung (7,1% Chlor in 8%iger Natronlauge) hinzu. Nach 3 min Aufenthalt im Eisbad gibt man 1,5 ml 10%ige, neutralisierte Glutaminsäurelösung hinzu und erhitzt, bis 5—6 ml destilliert sind, die man auf 7 ml auffüllt und mit 2 ml 2,5%iger p-Dimethylaminobenzaldehydlösung in Äthanol sowie 1 ml 2 n Schwefelsäure versetzt. Die Mischung erhitzt man 20 min auf 60° C, kühlt ab und mißt die Extinktion bei 550 nm. Von 0—10 μg Hydroxyprolin ist die Konzentration der Extinktion proportional. 2 ml Harn autoklaviert man über Nacht mit 8 ml gesätt. Bariumhydroxydlösung bei 1,3—1,4 atü. Die abgekühlte Lösung neutralisiert man mit 2 n Schwefelsäure, zentrifugiert, füllt den Überstand auf 10 ml auf und verwendet 1,5—5 ml zur Bestimmung.

[1] J. Lab. clin. Med. **53**, 970—976 (1959). Nat. Heart Inst., Bethesda, Md. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **184**, 299 (1950); vgl. auch diese Z. **156**, 208 (1957). — [3] Helv. chim. Acta **32**, 149 (1949). E. Müller, Würzburg

Eine schnelle quantitative Bestimmung der Cysteinsäure in Eiweißhydrolysaten erreicht J. F. Diehl[1] durch Anwendung einer papierelektrophoretischen Methode. Die Elektrophorese wird auf Whatman-Papier Nr. 3 MM (31,5×2,9 cm) unter Verwendung einer Pufferlösung p_H 3,6 (1 Vol Pyridin, 10 Vol Eisessig, 89 Vol Wasser) 2 Std bei einem konstanten Strom von 30 mA vorgenommen; Anfangsspannung etwa 280, Endspannung etwa 230 V. Nach Trocknen der Streifen bei 105° C (5 min) kann die quantitative Bestimmung der Cysteinsäure nach 2 Methoden vorgenommen werden. 1. Nach Anfärben mit Ninhydrin in Gegenwart von Kupferionen wird direkt auf dem Papierstreifen bei einer Wellenlänge von 500 nm photometrisch ausgewertet. 2. Nach Anfärben wie unter 1. wird die Cysteinsäurebande herausgeschnitten und mit 95%igem Äthanol extrahiert. Die Extinktion dieser Lösung wird bei 504 nm bestimmt. — Die genauen Arbeitsvorschriften sind im Original angegeben, ebenfalls wird die Vorbereitung der Eiweißproben beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1204—1206 (1959). Univ. Little Rock, Ark. (USA).
H. Garschagen

Eine Methode zur spektrofluorimetrischen Bestimmung von Adrenochrom im menschlichen Plasma teilen A. N. Payza und M. E. Mahon[1] mit. Verff. werten die Fluorescenz aus, die durch Zinkacetat hervorgerufen wird und durch Adrenolutin bedingt ist. Von untersuchten Substanzen geben mit Zinkacetat keine Fluorescenz Adrenalin, Noradrenalin, Tryptophan, Tryptamin, 5-Hydroxytryptophan, Serotonin, 3-Indolessigsäure, 5,6-Dihydroxy-N-methylindol, 3,4-Dihydroxyphenylalanin, Dopachrom, Epinin, Epinochrom und Adrenoxyl, eine bedeutend schwächere 2-Jodadrenochrom, 5,6-Dihydroxynorephedrinochrom und Noradrenochrom. Nach Ermittlung optimaler Bedingungen ergibt sich folgendes *Verfahren:* 1 ml heparinisiertes Plasma versetzt man in einem 25 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 2 ml Zinkacetat-Ascorbinsäurereagenslösung (siehe unten) und läßt 30 sec stehen. Unter Umschwenken gibt man 4 ml Aceton-Ascorbinsäurereagenslösung (siehe unten)

hinzu, wodurch Eiweiß gefällt und Adrenochrom zu Adrenolutin umgewandelt wird, und läßt 5 min stehen. Man filtriert durch Papier, das keine fluorescierenden Substanzen abgibt, oder zentrifugiert und mißt die Fluorescenz 10 min nach Reagenszusatz durch Anregung mit Licht von 405 nm bei 500 nm. Für den Plasmablindwert mischt man 1 ml Plasma mit 6 ml Aceton-Ascorbinsäurereagens. Für den Inneren Standard mischt man 1 ml Plasma mit 0,1 ml verd. Adrenochromlösung (siehe unten) und verfährt wie bei der Probe. Es sind dann Mikrogramm Adrenochrom/l Plasma = [(Meßwert Probe — Meßwert Plasmablindwert)/(Meßwert Innenstandard — Meßwert Probe)] · (1000/2). Die Differenz zwischen Reagensblindwert (2 ml Zinkacetat-Ascorbinsäurereagens + 1 ml Wasser + 4 ml Aceton-Ascorbinsäurereagens) und dem Wert einer Lösung aus 1 ml Wasser + 6 ml Aceton-Ascorbinsäurereagens muß vom Meßwert der Probe im Zähler abgezogen werden. — *1,5 m Zinkacetatlösung.* Die Lösung muß klar und darf nicht älter als 2 Tage sein. — *Ascorbinsäurelösung.* 1 g/100 ml Wasser, nicht älter als 4 Std. — *Zinkacetat-Ascorbinsäurereagens.* Kurz vor Gebrauch mischt man 30 ml 1,5 m Zinkacetatlösung mit 0,9 ml Ascorbinsäurelösung und verdünnt mit Wasser auf 45 ml, nach 30 min verwerfen. — *Acetonreagens.* 2 ml Zinkacetat-Ascorbinsäurereagens + 1 ml Wasser + 4 ml Aceton, muß klar sein. — *Aceton-Ascorbinsäurereagens.* 2 ml Ascorbinsäurelösung + 98 ml Acetonreagens. — *Adrenochromstammlösung.* Man löst 10 mg in 100 ml Wasser, nur 1 Tag haltbar. Zum Gebrauch verdünnt man 1 ml dieser Lösung auf 20 ml mit Wasser (5 μg/ml).

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1170—1174 (1959). Univ. Hosp., Saskatoon (Canada).
E. Müller, Würzburg

Über die chromatographische Analyse der Blutthiole berichten M. J. Smith und R. Rodnight[1]. Um Oxydation der Sulfhydrylgruppe zu vermeiden, fällt man das Eiweiß des CO-gesätt. Blutes durch Hitzekoagulation und adsorbiert aus dem Filtrat die Thiole an mit p-Chlorquecksilber(II)-benzoesäure gesätt. Dowex-2. Man eluiert mit Dimercaptopropanol, dessen Überschuß mit Äthylacetat entfernt wird. Die Sulfhydrylgruppen stabilsiert man mit N-Äthylmalimid und fraktioniert die Thiolmalimide mit verd. Salzsäure an Amberlite CG-120. Dann folgt Papierchromatographie. *Glutathion*, *Cysteinylglycin* und *Cystein* werden getrennt.

[1] Biochemic. J. **72**, 1 P—2 P (1959). Maudsley Hospital, Denmark Hill, S. E. (England). E. Müller, Würzburg

Elektrophorese von Proteinen. *Direkte Photometrie im fernen Ultraviolett* N. Ressler und S. D. Jacobsen[1] haben in Ergänzung zu ersten Angaben über die *Anwendung der direkten Photometrie bei der qualitativen papierelektrophoretischen Trennung der Proteine*[2] nunmehr auch quantitative Analysen nach dieser Methode beschrieben. Verwendet wird die ebenfalls früher angegebene Methode der Elektrophorese im mit Agar stabilisierten Flüssigkeitsfilm[3] der Pufferlösung, wozu jetzt nicht mehr Veronalpufferlösung, sondern eine Pufferlösung verwendet wird, die 0,05 m ist an Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan und an LiCl und die mit Salzsäure auf den p_H-Wert 8,6 eingestellt ist. Als Unterlage wird Quarz an Stelle von Kunststoff verwendet. Zum gewünschten Zeitpunkt wird das Pherogramm mit einer photographischen Platte unter der Quarzplatte aufgenommen, indem mit 200 nm (Monochromator) belichtet wird. Eine Färbung der Pherogramme erübrigt sich also. Die untersuchten Proteinfraktionen aus Humanserum haben sehr ähnliche Absorptionskoeffizienten. Das Beersche Gesetz ist überall erfüllt. Werden verschiedene Proteine eines Serums auf der gleichen photographischen Platte untersucht, dann ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse mit derjenigen bei der üblichen Elektrophorese vergleichbar, wie durch Messungen an 12 verschiedenen

Seren nach der direkt photometrischen Methode und nach der Färbemethode gezeigt wird. Die Trennkraft dieser Methode wird diskutiert.

[1] J. Lab. clin. Med. **54**, 115—124 (1959). Wayne County General Hosp., Eloise, Mich. (USA). — [2] Ressler, N.: Nature (London) **182**, 463 (1958). — [3] Ressler, N., N. A. Nelson u. H. L. Oster: J. Lab. clin. Med. **51**, 623 (1958); vgl. diese Z. **168**, 312 (1959). K. Cruse

W. B. Yeoman[1] zeigt, wie mit nur wenigen Änderungen der *Technik in der Papierelektrophorese der Proteine* eine sehr viel stärkere Fraktionierung erzielt werden kann: An Serumproben werden statt bisher 6 Fraktionen nunmehr 11 Fraktionen auswertbar. Erforderlich ist hierzu, daß Calciumlactat-haltiger Puffer verwendet wird (10,84 g Veronalnatrium, 1,84 g Veronal und 384 mg Ca-Lactatin 1 l), daß die mit Pufferlösung getränkten Streifen (Whatman chromatography No. 1) in der Apparatur (Fa. Evans Electroselenium Ltd., London) 30 min bei Stromfluß äquilibriert werden bevor die Serumprobe aufgegeben wird (8—10 μl), daß ferner 16 Std bei konstant 175 V elektrolysiert und schließlich mit Azocarmin B-Lösung (0,25 g gelöst in 162 ml Methanol, 18 ml Wasser und 20 ml Eisessig) gefärbt wird (10 min für den bei 100° C in 10 min getrockneten Streifen), anschließend zweimal genau 5 min in dem reinen Gemisch aus Methanol-Wasser-Eisessig (162:18:20) behandelt, zweimal in 10%iger Essigsäure (je 5 min) und schließlich in leicht angesäuertem Wasser (2 Tr. Eisessig auf 200 ml Wasser) 2 min gewaschen wird. Der an der Luft getrocknete Streifen wird dann im Reflex-Photodensitometer (Fa. J. Loebl, Newcastle-upon-Tyne) ausgemessen. Mit Berücksichtigung der früher angegebenen Albuminkorrektur[2] sind dann einwandfrei außerdem 4 α-, 2 β- und 4 γ-Fraktionen nachweisbar. Die nach dieser Methode gewonnene Durchschnittsverteilung der Proteine in 20 verschiedenen Serumproben ist angegeben.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 523—530 (1959). Frenchay Hosp., Bristol (England). — [2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 246 (1959). K. Cruse

R. D. Strickland, P. A. Mack, F. T. Gurule, T. R. Podleski, O. Salome und W. A. Childs[1] haben aus *Serumproteinelektrophoresen und anschließender gravimetrischer Mikroanalyse* 11 verschiedene Serumproteine ermittelt und damit gezeigt, wie wenig stichhaltig die Auftrennung in allein 5 Fraktionen anzusehen ist. Die zu diesen Versuchen verwendete Anordnung ist in Abb. 1 wiedergegeben: Der Boden des Troges wird von den Außenkammern aus zunächst bis zur Höhe der Sperrleisten am Boden mit 2%iger Agarlösung in Pufferlösung (Veronal, p_H 8,6, Ionenstärke 0,1) gefüllt. Nach deren Erstarren werden die Außenkammern vollständig mit dieser Agarlösung gefüllt, die Mittelkammern mit Pufferlösung. In diese tauchen auch die Elektroden ein. Auf die seitlichen Agarblöcke wird der Rahmen für die Proben so aufgelegt, daß die Seitenschlitze die Agarbrücke zur Pufferlösung freigeben. Die Probelösungen werden in $5 \times 10 \times 2$ mm großen Agarblöcken (1% Agar) aufgesogen (24 Std bei 4° C). Die Blöcke werden dann in die Mitte der Rinnen im Rahmen aufgelegt und beiderseits durch Füllen der Rinne mit 1%iger Agarlösung (höchstens 45° C warm) mit den Agarbrücken zur Pufferlösung verbunden. Nach Bedecken mit Folie wird bei 4° C 24 Std mit 2,5 V/cm elektrolysiert. Danach werden die Agarstreifen entnommen und in 10%iger Trichloressigsäurelösung entwickelt (Trübung der Zonen), schließlich werden die Zonen abgeschnitten und jede für sich in einem Zentrifugenglas mit 2 ml Wasser in siedendem Wasser gelöst. Dann werden 2 ml 20%ige Trichloressigsäurelösung zugefügt, man durchmischt, läßt abkühlen und zentrifugiert. Die klare Lösung wird verworfen, der Niederschlag — in Papier aufgesogen — 2mal mit

10%iger Trichloressigsäurelösung gewaschen. – Die gravimetrische Bestimmung wird mit Hilfe des Mikrotiegels nach Abb. 2 vorgenommen, dessen Boden (12 mm Durchmesser) aus einer durchlöcherten Goldfolie besteht, die mit Gummi gedichtet auf den Unterteil aufgedrückt ist, der wiederum selbst auf eine Saugflasche aufgesetzt wird. Als Filter dient mit Säure gewaschener Asbest. Der eigentliche Tiegel, aus Acrylat gefertigt, wiegt nicht mehr als 10 mg. Der darin gesammelte Proteinniederschlag, mit 10%iger Trichloressigsäurelösung gewaschen, wird bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Bei 95% der Messungen lag der Fehler bei 7,53%.—Angeschlossen wird noch eine Stickstoffbestimmung (Mikro-Kjeldahl) in

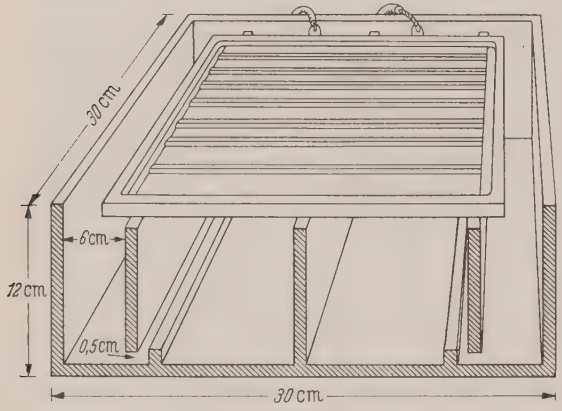

Abb. 1

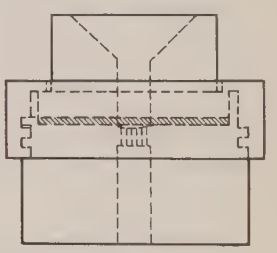
Abb. 2

Abb. 1. Elektrophorese-Apparatur nach STRICKLAND u. Mitarb.
Abb. 2. Mikrotiegel nach STRICKLAND u. Mitarb.

den einzelnen Fraktionen. An Serumproben von 12 Personen wird gravimetrisch ein Gesamtproteingehalt von 7,26 ± 0,52 g/100 ml, bei Fällung mit Alkohol von 7,25 ± 0,34 g/100 ml festgestellt. Der Gesamt-Stickstoffgehalt betrug 15,15 ± 0,45%. Die entsprechenden Ergebnisse an 11 Fraktionen (1 Rho-Fraktion, 2 Albuminfraktionen, 3 α-, 1 β- und 4 γ-Fraktionen) sind ebenfalls angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1410—1413 (1959). Vet. Admin. Hospital, Albuquerque, N. M. (USA). K. CRUSE

Bei der Auswertung von Protein-Elektropherogrammen stößt man häufig auf Schwierigkeiten, deren Ursachen in den Anfärbeverfahren zu suchen sind. Diese Schwierigkeiten umgeht eine von N. RESSLER[1] ausgearbeitete Arbeitstechnik, bei der die UV-Absorption der elektrophoretisch getrennten Proteine unmittelbar im Pherogramm ohne weitere Trocknung oder Anfärbung photoelektrisch gemessen wird. Der Verf. benutzt als Träger für das Elektropherogramm eine mit einer geringen Menge eines Gels (z. B. 0,16% Agar oder 1% Kartoffelstärke) versetzte Pufferlösung (0,05 Mol Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan + 0,05 Mol LiCl/l, mit Salzsäure auf p_H 8,6 eingestellt), die in gleichmäßig dünner Schicht (0,17 ml/cm²) auf eine UV-durchlässige Quarz- oder Quarzglasplatte aufgetragen wird. Glas- oder Plastikstreifen verhindern das seitliche Abfließen des Flüssigkeitsfilms. Mit Pufferlösung getränkte Filterpapierstreifen stellen die Verbindung zu den Elektrodengefäßen her. Die Lösung der zu trennenden Serumproteine wird in einen 2 mm breiten Filterpapierstreifen eingesaugt, der auf die Startlinie des Elektropherogramms gelegt wird. Dann wird mit 9,4 V/cm elektrophoriert (bei höheren Spannungen, z. B. 18,9 V/cm, wird das Pherogramm mit einem Eistrog gekühlt, so daß die Temperatur nicht über 25—30° C steigt). Das fertige Pherogramm

wird dann vertikal mit UV-Strahlung von 200 nm beleuchtet, die von einem Bausch & Lomb-Gittermonochromator geliefert wird. Unter dem Pherogramm wird parallel zur Wanderungsrichtung der Proteine das Photozellengehäuse eines Beckman DU-Spektralphotometers in einzelnen Schritten von 2 mm entlanggeführt, dessen Photozelle über eine 2 mm breite Schlitzblende von der durch Absorption im Pherogramm mehr oder weniger geschwächten UV-Strahlung beleuchtet wird. Die unter solchen Bedingungen an Lösungen verschiedener Proteine und bei wechselnden Konzentrationen gemessenen Extinktionen liegen auf einer gemeinsamen Eichgeraden, so daß die photoelektrische Auswertung der Pherogramme unmittelbar quantitative Auskunft über die Verteilung der Proteine gibt. Die Streuung der Meßwerte ist verhältnismäßig gering. Zu gleichwertigen Auskünften gelangt man, wenn man von dem Elektropherogramm eine UV-belichtete Photokopie herstellt und deren Schwärzung ausphotometriert[2]. Demgegenüber erhält man beim Anfärben von Proteinelektropherogrammen mit Amidoschwarz B und nachfolgendem Photometrieren nur bei strenger Einhaltung konstanter Bedingungen unter Berücksichtigung der verschiedenen Färbbarkeit der einzelnen Proteine und der nichtlinearen Konzentrationsabhängigkeit der resultierenden Farbzonen vergleichbare Ergebnisse. — Für die photoelektrische Auswertung der Pherogramme wurde die Wellenlänge 200 nm gewählt, weil in diesem Spektralbereich eine höhere Empfindlichkeit erreicht wird und weil hier überwiegend die Peptidbindung absorbiert, so daß verschiedene Proteine vergleichbare Absorptionskoeffizienten haben.

[1] J. Lab. clin. Med. **54**, 291—299 (1959). Wayne County General Hosp., Eloise, Mich. (USA). — [2] Ressler, N., u. S. D. Jacobson: J. Lab. clin. Med. **54**, 115 (1959); vgl. diese Z. **175**, 228 (1960). H. Hartkamp

Über die Farbstoffbindungskapazität von 11 elektrophoretisch getrennten Serumproteinen berichten R. D. Strickland, T. R. Podleski, F. T. Gurule, M. L. Freeman und W. A. Childs[1]. Verff. untersuchen die Farbstoffkomplexe von Amidoschwarz 10 B, Bromphenolblau und Ponceau 2 R mit den 11 an Agar getrennten Serumproteinen, indem sie die ungefärbten Fraktionen und die Komplexe wägen, sowie deren Farbstoffanteil photometrisch bestimmen. Dabei ergibt sich, daß sich nicht nur die verschiedenen Fraktionen den einzelnen Farbstoffen gegenüber unterschiedlich verhalten, sondern daß auch gleiche Fraktionen verschiedener Seren die Farbstoffe ungleich binden, so daß erhebliche Fehler entstehen können. Die Ergebnisse sind in 2 Tabellen übersichtlich zusammengestellt. Bei den fünf durch Papierelektrophorese erzielten Fraktionen ist die Übereinstimmung mit der gravimetrischen Methode recht gut, die Färbemethode kann also nur grobe Abweichungen der Serumproteinverteilung aufdecken.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1408—1410 (1959). Vet. Administ. Hospital, Albuquerque N. M. (USA). E. Müller, Würzburg

Die amperometrische Bestimmung von Disulfid- und von Sulfhydrylgruppen in Proteinen und Aminosäuren hat J. R. Carter[1] modifiziert, indem die rotierende Platinelektrode durch eine stationäre ersetzt wird, die gegen eine Hg,HgO-Elektrode (an Bariumhydroxyd gesättigt) als Bezugselektrode (−0,10 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode) geschaltet wird. Die amperometrischen Messungen sind auch unter diesen Umständen zuverlässig reproduzierbar, wenn mit einem Glasrührer konstanter Geschwindigkeit (600 U/min) und in stets gleicher geometrischer Anordnung von Rührer und Elektrode gearbeitet wird. — Zur *Titration von Disulfidgruppen* werden 0,25—1,0 ml wäßriger Proteinlösung (1—8 mg/ml) zu soviel 8 m Harnstofflösung gegeben, daß eine etwa $6 \cdot 10^{-5}$ m Lösung entsteht. (Die Harnstofflösung ist mit etwas ÄDTA versetzt, um eine katalytische Oxydation

durch Metallionen zu vermeiden.) Nach Zugabe von 0,1 ml frischer, gesätt. Na_2SO_3-Lösung je 30 ml wird bei 37° C mit 0,001 n Silbernitratlösung titriert. — Sollen *Sulfhydrylgruppen in kristallisierten und reinen Proteinen* titriert werden, so wird der Na_2SO_3-Zusatz durch 0,1 ml einer auf das 10fache verdünnten gesätt. Na_2CO_3-Lösung ersetzt. — *Serum* wird zur *Bestimmung von Sulfhydrylgruppen* am besten auf das Doppelte verdünnt. 0,5—1,0 ml dieser Lösung werden dann analysiert. — Zur *Disulfidbestimmung* wird besser auf das 10fache verdünnt und eine Menge von nur 0,25—0,5 ml verwendet. Bei Anwendung der Sulfitolyse werden gleichzeitig enthaltene Sulfhydrylgruppen mitbestimmt. Wird bei 27° C titriert, dann treten Inkubationszeiten von mehreren Minuten auf. — Die Auswahl dieser Vorschriften ist eingehend behandelt; die Vorschriften werden an Titrationen von *oxydierter Ribonuclease*, *Insulin*, *Trypsin*, *Pepsin*, *Rinderserumalbumin* und *Prothrombin* sowie von einer „Fraktion A" geprüft. Auch *Humanserum* läßt sich nach dieser Methode auf Disulfid- und Sulfhydrylgruppen analysieren.

[1] J. biol. Chemistry **234**, 1705—1710 (1959). State Univ. Iowa City, Iowa (USA).
K. Cruse

Zur Mikrobestimmung von Halbcystinresten in Proteinen verwenden S. Akabori und T. Fujiwara[1] ihre früher beschriebene[2] Methode, Cystin und Cystein mittels Hydrazin in Schwefelwasserstoff überzuführen und diesen colorimetrisch

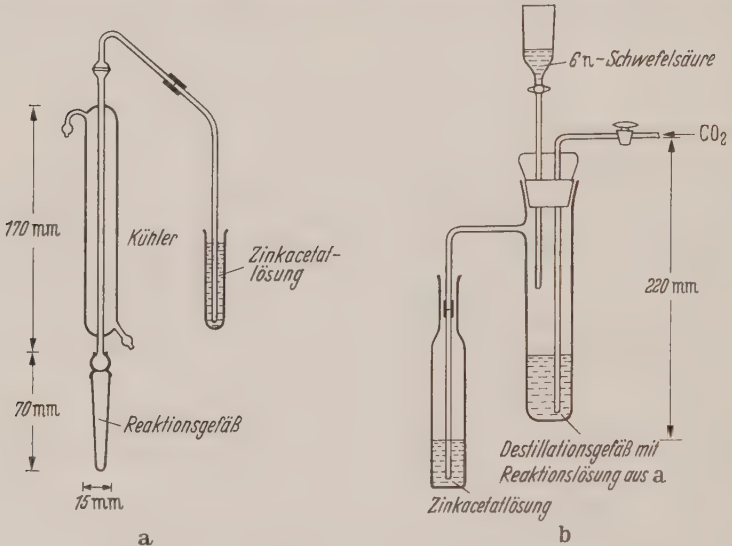

Abb. 1a u. b. Apparatur zur Bestimmung von Cystin und Cystein nach Akabori u. Fujiwara. a Zur Hydrazinolyse; b zur Destillation von Schwefelwasserstoff

mit p-Aminodimethylanilin nach den Angaben von L. St. Lorant[3] zu bestimmen. Die Methode, welche für Halbcystin-Schwefel spezifisch zu sein scheint, kann nicht zur Bestimmung von Methionin- und Taurin-Schwefel herangezogen werden. — *Arbeitsweise.* 0,5 ml 80%ige Hydrazinhydratlösung sowie eine Probeneinwaage mit 30—100 μg Halbcystin werden in das Reaktionsgefäß der Abb. 1a gegeben, die Mischung wird 5 Std bei 120—130° C (Ölbad) am Rückfluß erhitzt. Um Einwirkung von Schwefelwasserstoff aus der Atmosphäre zu verhindern, ist eine Vorlage mit 5 ml 2%iger Zinkacetatlösung (p_H nicht unter 5) vorgeschaltet. Anschließend wird die abgekühlte Reaktionslösung in einen Meßkolben übergeführt und so mit 0,01 n

Natronlauge verdünnt, daß die Lösung etwa 4—20 μg H_2S/ml enthält. 2,0—3,0 ml der Auffüllung werden in das Destillationsgefäß (Abb. 1 b) gegeben und mit einer Vorlage verbunden, welche 35 ml Zinkacetatlösung enthält. Man leitet durch die Lösung 5 min einen kräftigen Strom von gereinigtem CO_2 (siehe unten), bringt das Reaktionsgefäß in ein 50—55° C heißes Wasserbad und läßt aus dem Tropftrichter 5 ml 6 n Schwefelsäure zufließen. Man destilliert 20 min unter mäßigem Durchleiten von CO_2. Anschließend entfernt man das Absorptionsgefäß und hält es 5 min auf einer Temperatur von 37° C. Nach Zugabe von 1,5 ml p-Aminodimethylanilinlösung [0,5 g in 100 ml Schwefelsäure (1:1)] wird das verschlossene Gefäß kräftig geschüttelt, schnell mit 0,5 ml 10%iger Eisen(III)-chloridlösung versetzt, nochmals kräftig geschüttelt und verschlossen 15 min auf 37° C erwärmt. Dann wird auf 50 ml mit Wasser verdünnt und die blaue Lösung innerhalb 30 min bei 650 bis 670 mμ photometriert. Eine Eichkurve wird in analoger Weise mit reinem l-Cystin aufgestellt. — Die Methode wurde von den Verff. für verschiedene kristalline Proteine angewandt. Zur Bestimmung des Gesamtschwefels wurde mit bestem Erfolg die von T. Kiba, I. Akaza, N. Kiski und S. Taki[4] beschriebene Phosphorsäuremethode herangezogen. — *Reinigung von CO_2.* Das in einem Kippschen Apparat entwickelte CO_2 wird durch 5 hintereinandergeschaltete Waschflaschen geleitet, welche mit Wasser, 1%iger Kaliumpermanganatlösung (1% Natriumcarbonat enthaltend), Vanadium(II)-sulfatlösung (eine Mischung von 2 g Ammoniumvanadat in 200 ml Wasser und 20 ml 6 n Schwefelsäure wird in einer CO_2-Atmosphäre kräftig mit 3% Zinkamalgam geschüttelt, bis die Lösung violett geworden ist und über etwas Zinkamalgam aufbewahrt), 5%iger Bariumchloridlösung und 2%iger Zinkacetatlösung beschickt sind.

[1] Bull. Soc. chim. biol. (Paris) **40**, 1983—1992 (1958). Osaka Univ. (Japan). — [2] Kuratomi, K., K. Ohno u. S. Akabori: J. Biochem. Japan, **44**, 183 (1957); vgl. diese Z. **163**, 308 (1958). — [3] Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **185**, 245 (1929); vgl. diese Z. **81**, 150 (1930). — [4] Bull. chem. Soc. Japan, **30**, 482 (1957).

H. Garschagen

Über die Cystinreduktion als Grundlage einer einfachen Amidgruppenbestimmung für alle Proteine berichtet H. Stegemann[1]. Als Weiterentwicklung einer früher beschriebenen Methodik[2] wird ein Weg gezeigt, nach Cystinreduktion bei allen Proteinen ohne spezielle Vorbehandlung die Anzahl der Amidgruppen bestimmen zu können. Keine der bekannten Bausteinaminosäuren stört. — *Arbeitsweise.* Die verwendeten Geräte und die Durchführung der Ammoniakanalyse nach Nessler mit siliciumfreier Natronlauge wurden bereits beschrieben[2]. *Reduktion, Hydrolyse und Diffusion.* Den Erlenmeyer-Kolben (50 ml Inhalt, Stopfen NS 29 aus Polyäthylen) beschickt man vorsichtig mit 1 ml 0,8 n Schwefelsäure ohne die Wandung zu benetzen. Dann gibt man in ein auf Polyäthylenfüßen ruhendes Probeschälchen 1 ml der schwach sauren bis schwach alkalischen Proteinlösung mit 2—20 μg Amid-N, 1 ml Thioglykolatlösung (8 g Ätznatron + 90 ml Wasser + 10 ml 99%ige Thioglykolsäure) und 2 Plätzchen (etwa 400 mg) Ätznatron und verschließt das Gefäß sogleich mit dem Stopfen. Jede Analyse wird 3fach angesetzt. Nach etwa 64 Std sind die Reduktion, Hydrolyse und Diffusion abgeschlossen, das Probeschälchen wird herausgenommen und in der Schwefelsäure nach Zugabe von 7 ml Wasser, 1 ml 0,8 n Natronlauge und 1 ml Nessler-Reagens das diffundierte Ammoniak bestimmt. Sollten irgendwelche Ausgangslösungen zu filtrieren sein, so gibt man diese durch Papier aus Polyvinylchloridfaser (Rhovylpapier Schl. & Sch.). Quantitative Filtrierpapiere enthalten Ammoniumionen und erhöhen den Blindwert.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **315**, 137—140 (1959). Med. Forschungsanst. d. Max-Planck-Ges., Göttingen. — [2] Stegemann, H.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **312**, 255 (1958); vgl. diese Z. **172**, 313 (1960). H. Garschagen

Über die papierelektrophoretische Bestimmung von Lipoproteiden berichten R. Ja. Vysockij und E. G. Lifšic[1]. Die Methode beruht auf der direkten Färbung des Elektropherogramms mit Sudanschwarz. Das Blut des nüchternen Menschen wird durch Punktierung der Vene so genommen, daß eine Hämolyse verhindert wird. Nach 20—30 min wird das Blut zentrifugiert und die Probe bei 140—150 V und 0,12 mA/cm der Elektrophorese unterworfen. Die Papierstreifen sind 2,5 cm breit und liegen horizontal im gekühlten Rahmensystem. Das Laufmittel wird mit einer Lösung von 8,76 g Medinal und 1,38 g Veronal in 1 l Wasser (p_H 8,6) gepuffert, der einige Kristalle Thymol zugesetzt werden. Auf die feuchten Streifen werden 0,06—0,08 ml der Probe aufgetragen und der Strom eingeschaltet. In 15—18 Std beträgt die Laufstrecke 12—13 cm. Nach dem Trocknen der Streifen (horizontal, 50—80° C oder 20° C) werden die Lipoproteide mit Sudanschwarzlösung[2] angefärbt und durch die Intensität der Färbung bestimmt.

[1] Lab. Delo **5**, Nr. 3, 31—34 (1959) [Russisch]. Med. Inst., Rižsk. — [2] Haag, W.: Ann. biol. clin. **14**, 465 (1956); Simon, K.: Z. ges. inn. Med. **12**, 113 (1957).

O. Gautsch

Eine Methode zur Bestimmung der Lipoproteine des Serums mit der Ultrazentrifuge geben L. del Gatto, F. T. Lindgren und A. V. Nichols[1] an. Verff. werten den Auftrieb der Lipoproteine in einer Natriumbromidlösung von der Dichte 1,20 aus. Bei Einhalten der ausführlichen Versuchsbedingungen ist es möglich, in 2 ml Serum die 5 Lipoproteinhauptklassen zu bestimmen. In einer Tabelle sind die Beziehungen zwischen Auftriebsrate und Konzentration angegeben. Die Auftriebsrate als Funktion der Konzentration gibt die Gleichung: $S_f = S^o_{f(1,20)}(1 - K\sum_{i=1}^{n} C_i)$.

Die K-Werte der 5 Hauptklassen sind: $S_{f(1,20)}185-802\,K = -5{,}58\cdot10^{-5}\,(\text{mg-}\%)^{-1}$; $S_{f(1,20)}61-185\,K = +6{,}40\cdot10^{-5}\,(\text{mg-}\%)^{-1}$; $S_{f(1,20)}44-61\,K = +0{,}47\cdot10^{-5}\,(\text{mg-}\%)^{-1}$; $S_{f(1,20)}16-44\,K = +0{,}42\cdot10^{-5}\,(\text{mg-}\%)^{-1}$; $S_{f(1,20)}0-6\,K = +4{,}80\cdot10^{-5}\,(\text{mg-}\%)^{-1}$.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1397—1399 (1959). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

E. Müller, Würzburg

Globuline. K. H. Höfle[1] weist auf die *Abhängigkeit der Wanderweiten der α-, β- und γ-Globuline vom Gesundheitszustand des Serumlieferanten* hin und verwendet die bei der Elektrophorese gemessenen relativen, auf die mittlere Wanderung der Albumine bezogenen Wanderweiten, die vom Gesundheitszustand fast überhaupt nicht beeinflußt werden, zu klinisch-diagnostischen Aussagen. Wird in stets gleicher Apparatur und unter stets gleichen Bedingungen gemessen, werden Elektroosmose und Wärmeeffekte berücksichtigt und auch Fehler durch Strömungseffekte infolge unvollkommener Niveauhaltung vermieden, so lassen sich die Laufstrecken der Globulinunterfraktionen direkt in Prozenten der Albuminfraktionen als Maßstab verwenden. Ein hierzu verwendbarer und die Auswertung vereinfachender Auswerte-Maßstab wird beschrieben. Er ist auch zur Bestimmung der absoluten Wanderungsgeschwindigkeit bzw. der Laufstrecke und Fraktionsbreite verwendbar.

[1] Ärztl. Lab. **5**, 185—189 (1959). Med. Klinik, Darmstadt. K. Cruse

Zur Halbmikrobestimmung des Phosphorgehaltes in Lipoiden verbessert I. Korpáczy[1] die Methode von H. Thaler[2], indem er das blaue Reaktionsprodukt mit Butanol ausschüttelt und im Spektrophotometer mißt. Es kann noch 1 μg Phosphor in 1 g Fett bestimmt werden. Zur Herabsetzung der Löslichkeit des Butanols in der wäßrigen Phase wird in natriumsulfathaltigen Lösungen gearbeitet. Auf die Bestimmung selbst hat das Natriumsulfat nur einen geringen Einfluß. — *Arbeitsvorschrift.* Zur Veraschung werden 0,01—0,10 g Fettsubstanz auf 4 Dezimalen genau in eine Quarz- oder Platinschale eingewogen, mit 0,75 g Magnesiumoxyd, auf

0,01 g genau eingewogen, überschichtet und 30 min in einen Trockenschrank von 105° C gestellt. Dann wird vorsichtig verascht und bei 800° C im Muffelofen geglüht. Nach dem Erkalten löst man die Asche durch gelindes Erwärmen in 20 ml 2 n Schwefelsäure und überführt die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben. Dazu gibt man 10 ml Natriummolybdatlösung (25 g Natriummolybdat + 180 g wasserfreies Natriumsulfat in 1 l 10 n Schwefelsäure) und füllt mit (18%iger Natriumsulfatlösung beinahe auf. Nach Zugabe von 4 ml Hydrazinsulfatlösung wird der Kolben sofort geschlossen. Eine Blindprobe enthält statt der Asche 20 ml Magnesiumsulfatlösung. In einem kräftig siedenden Wasserbad werden die bis zum Kolbenhals eingetauchten Meßkölbchen 10 min erhitzt und dann auf Zimmertemperatur abgekühlt. Der Kolbeninhalt wird mit 2 mal ungefähr 5 ml Natriumlösung in einen 150 ml-Scheidetrichter gespült und mit 6 ml n-Butanol 20 –25 sec stark geschüttelt. Die wäßrige Schicht wird noch 2 mal mit 3 und 2 ml Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden auf 10 ml mit Natriumsulfatlösung aufgefüllt, in einer Gerber-Milchzentrifuge 10 min zentrifugiert und über Nacht stehen gelassen. Dann wird die Extinktion der Butanollösung im Pulfrich-Stufenphotometer mit 1 cm-Küvette und dem Farbfilter S 75 gegen die Butanollösung einer ebenso hergestellten Blindprobe gemessen. Der Phosphorgehalt wird aus der Eichkurve abgelesen oder mittels Extinktions-Verhältnis-Numerus[3] berechnet. Die Eichkurve verläuft zwischen 1 und 40 μg linear.

[1] Fette u. Seifen **61**, 748—750 (1959). Inst. Ernähr.- und Verpflegungswissenschaft, Budapest (Ungarn). — [2] Fette u. Seifen **54**, 763 (1952); vgl. diese Z. **140**, 442 (1953). — [3] Korpáczy, I.: Élelm. Vizsg. Közl. **3**, 55 (1957). Johanna Sepp

Eine mikrocolorimetrische Methode zur Bestimmung von Sorbit, Mannit und Glycerin in biologischen Flüssigkeiten beschreibt J. M. Bailey[1]. Die Zuckeralkohole werden mit Perjodsäure oxydiert, und der entstehende Formaldehyd wird colorimetrisch nach einer modifizierten Methode von Kersey[2] bestimmt. Die Bestimmungsgrenze liegt zwischen 5 und 50 μg Alkohol in 0,1 ml zu untersuchendem Material. Die Untersuchung ist in Kulturen von MB III *Mäuse-Lymphoblasten* durchgeführt worden. — *Arbeitsweise.* 0,1 ml Kulturflüssigkeit, die zwischen 5 und 50 μg Sorbit, Mannit oder Glycerin enthalten soll, wird mit 1 ml Wasser verdünnt und durch Zugabe von 0,2 ml 0,3 n Bariumhydroxydlösung und 0,18 ml 5%iger Zinksulfatlösung, die 0,004% Phenolrot enthält, enteiweißt. Das überschüssige Barium entfernt man mit 0,05 ml 4%iger Magnesiumsulfatlösung. Man zentrifugiert und gibt zu 1 ml der überstehenden Lösung 0,4 ml 1 n Schwefelsäure und 0,1 ml 0,2 m Perjodsäure. Nach genau 10 min stoppt man die Oxydation durch 0,2 ml 1 m Natriumarsenitlösung (2,5 g Natriumhydroxydplätzchen und 5 g As_2O_3 in 50 ml Wasser) ab. Durch genau eingehaltene Reaktionszeit wird die Oxydation etwa vorhandener Glucose vermieden. Nach 1—2 min erscheint die Farbe des freiwerdenden Jods. Man fügt nun 1 ml Phenylhydrazinreagens (400 mg Phenylhydrazinhydrochlorid in 100 ml 0,1 n Salzsäure) und 0,1 ml 5%ige Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung zu, läßt genau 10 min stehen und fixiert die Färbung durch 2,3 ml 4 n Salzsäure. Nach weiteren 5—10 min mißt man die Extinktion bei 540 nm in 1 cm-Küvetten des Beckman-DU-Spektrophotometers. Die Menge der Zuckeralkohole ermittelt man aus Eichkurven.

[1] J. Lab. clin. Med. **54**, 158—166 (1959). Johns Hopkins Med. School Baltimore, Md. (USA). — [2] Kersey, R. W., J. R. Maddocks u. T. E. Johnson: Analyst **65**, 203 (1940). Ursula Baumann

Eine verbesserte Glucosewert-Bestimmung mit Glucoseoxydase geben H. H. Schlubach und K. Repenning[1] an. Die Verbesserung beruht darauf, daß ein zur enzymatischen Blutzuckerbestimmung empfohlenes Testreagens (C. F. Boehringer

& Soehne, Mannheim) verwendet wird. Das nach der Gleichung Glucose + H_2O + O_2 $\xrightarrow{\text{Glucoseoxydase}}$ Gluconsäure + H_2O_2 gebildete Wasserstoffperoxyd wird mit o-Dianisidin und Peroxydase zu einem braunen Farbstoff umgesetzt, der bei 436 nm colorimetriert wird. Von allen anderen Monosacchariden wird nur Mannose zu 0,98% mitumgesetzt. — *Arbeitsvorschrift.* 10 mg des Polysaccharids werden in einem 5 ml-Meßkölbchen mit 2 ml 1 n Schwefelsäure 48 Std auf 20° C gehalten. Danach versetzt man mit etwas weniger als der berechneten Menge 1 n Kalilauge und füllt auf. Man entnimmt 0,2 ml der Lösung, versetzt diese mit 5 ml Glucosereagens und mißt die Absorption nach 35 min gegen eine Standardglucoselösung im Elko II (Zeiss) bei 436 nm. Als Blindprobe dient eine Lösung aus 0,2 ml Wasser und 5,0 ml Reagens.

[1] Angew. Chem. **71**, 193 (1959). Physiol.-chem. Inst., Univ. München.
MARGOT ZIMMERMANN

Eine Methode zur photometrischen Bestimmung von Phenylbrenztraubensäure im Urin, die auf der Reaktion mit Eisen(III)-chlorid beruht, beschreiben A. SAIFER und A. F. HARRIS[1]. Die schnell verblassende Färbung des Komplexes wird durch Zugabe von Eisen(III)-ammoniumsulfat sowie durch Arbeiten bei tiefer Temperatur und unter Lichtausschluß stabilisiert. — *Arbeitsweise.* Man pipettiert 1,00 ml Urin in ein 15 ml-Zentrifugenglas, setzt 4,00 ml Glykokoll-Pufferlösung von p_H 2,2 (4,35 g Glykokoll und 3,40 g Natriumchlorid werden in einem 1 l-Meßkolben in etwa 400 ml Wasser gelöst, mit 420 ml 0,1 n Salzsäure versetzt und zur Marke aufgefüllt), sowie 1,00 ml 4%ige Uranylnitrat-Lösung in Glykokoll-Pufferlösung (zur Fällung der Phosphate) zu, stellt 10 min in ein Eisbad und zentrifugiert dann 5 min bei 3000 U/min. Man gibt 5 ml der überstehenden Lösung in einen 10 ml-Meßzylinder, kühlt wieder 10 min im Eisbad, gibt 1,00 ml eiskalte Eisen(III)-ammoniumsulfatlösung (9,8 g $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ in 100 ml Glykokoll-Pufferlösung) sowie 0,10 ml 10%ige Eisen(III)-chloridlösung zu und läßt 30 min im Eisbad im Dunkeln stehen. Dann mißt man die Extinktion bei 630 nm gegen eine Blindprobe. Die Menge Phenylbrenztraubensäure in Milligramm/100 ml errechnet sich nach folgender Formel: Extinktion der Probe/Extinktion des Standards · mg-% Standard · 0,88. Die Standardlösungen enthalten 25, 50 und 75 mg Natriumphenylbrenztraubensäure/100 ml.

[1] Clin. Chemistry **5**, 203—217 (1959). Isaak Albert Res. Inst. of Jewish Chronic Desease Hosp., Brooklyn, N. Y. (USA). URSULA BAUMANN

Die Anwendung der Dead stop-Titration zur Mikrobestimmung von Adrenalin schlagen J. A. C. VAN PINXTEREN und M. E. VERLOOP[1] vor. Adrenalin wird mit Hexacyanoferrat(III) zu Adrenochrom oxydiert und das entstandene Hexacyanoferrat(II) mit Zinksulfatlösung und Dead stop-Endpunktsanzeige titriert. — *Ausführung.* 2,00 ml der Adrenalinlösung werden mit 2,0 ml 2%iger Boraxlösung und 5 ml etwa 0,01 m Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung vermischt. Man läßt 5 min stehen, säuert mit 1 ml 4 n Schwefelsäure an und titriert nach Einsetzen von 2 Platinelektroden bei einer Polarisationsspannung von 20 mV mit Zinksulfatlösung. Bei Gehalten von 2,000—0,250 mg verwendet man 0,0150 m Maßlösung, für 0,250—0,100 mg 0,0075 m und für 0,100—0,025 mg 0,00015 m. — Natriummetabisulfit und Phenol, die beide in den offizinellen Adrenalinlösungen nach der holländischen Pharmacopöe enthalten sind, stören die Bestimmung. Das Bisulfit stört dadurch, daß es das Adenochrom wieder zu Adrenalin reduziert. Es werden Plusfehler bis zu 34% erhalten. Phenol verursacht um etwa 8% zu hohe Werte. Bei Anwesenheit von beiden Verbindungen neben Adrenalin liegen die Fehler bei + 36%. Die Störung kann dadurch eliminiert werden, daß man diese Substanzen vor der Bestimmung aus der kochenden Lösung mit einem Stickstoffstrom aus-

treibt. — *Bestimmung in Solutio Adrenalini Bitartratis.* 2,00 ml Adrenalinlösung versetzt man mit 10 Tr. verd. Schwefelsäure und erwärmt 10 min unter Durchleiten von Stickstoff in einem kochenden Wasserbad. Danach neutralisiert man mit 1 n Lauge gegen Phenolrot, gibt 2 ml 2%ige Boraxlösung und 5 ml etwa 0,05 m Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung zu, läßt 5 min stehen, fügt 1 ml verd. Schwefelsäure hinzu und titriert mit 0,075 m Zinksulfatlösung. 1 ml 0,075 m Zinksulfatlösung entspricht 0,4575 mg Adrenalin. — Die Standardabweichung beträgt 0,08 mg.

[1] Pharmac. Weekbl. **94**, 169—178 (1959) [Holländisch] (Mit engl. Zus.fass.) Univ. Utrecht (Holland). MARGOT ZIMMERMANN

Der Dihydrocholesteringehalt in Serum und Geweben kann nach W. W. WEBSTER jr., C. W. NICHOLS jr. und I. L. CHAIKOFF[1] bestimmt werden, wenn man die mit Digitonin fällbaren Sterine nach der Digitonin-Anthron-Methode ermittelt und davon den nach W. M. SPERRY und M. WEBB[2] bestimmten Cholesterinwert abzieht. Verff. überprüfen die Digitonin-Anthron-Methode und empfehlen folgende *Arbeitsvorschrift. Plasma.* 0,5 ml Plasma werden in ein 15 ml-Zentrifugenröhrchen mit 10 ml Aceton-Alkoholgemisch (1:1) gegeben und mit einem Glasstab durchgerührt. Man zentrifugiert, überführt die überstehende Flüssigkeit in ein 2. Röhrchen und dampft im Luftstrom bei schwacher Erwärmung auf etwa 5 ml ein. Den Niederschlag im 1. Röhrchen wirbelt man noch einmal mit 5 ml Aceton-Alkohol auf, gibt den Überstand zum 1. Extrakt und dampft wieder auf etwa 4 ml ein. — *Gewebe.* Das gut zerkleinerte Material wird in einen Erlenmeyer-Kolben gegeben, in dem sich die 20fache Menge Äthanol-Äther (3:1) befindet. Man verschließt mit einem Bunsen-Ventil und erhitzt auf einem Dampfbad 2—3 Std mäßig. Der Extrakt wird dekantiert und unter 2maligem Nachwaschen mit wenig Lösungsmittel in einen Meßkolben von geeigneter Größe filtriert. Man füllt mit Lösungsmittel auf und entnimmt einen aliquoten Teil mit 0,20—1,50 mg Sterinen, den man bei 60° C in einem Zentrifugenröhrchen zur Trockne eindampft und in 4 ml Aceton-Alkohol (1:1) wieder aufnimmt. — *Bestimmung.* Die so erhaltene Lösung versetzt man mit 4 Tr. 50%iger Kalilauge und hydrolysiert 30 min bei 60° C. Dann wird mit Eisessig gegen Phenolphthalein neutralisiert und mit 1 Tr. 10%iger Essigsäure angesäuert. Mit 2 ml Digitoninlösung (0,5 g in 100 ml 50%igem Äthanol bei 60° C gelöst) werden die Sterine gefällt und nach Stehen über Nacht 15 min bei 2500 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert, das Röhrchen läßt man auf Filtrierpapier ablaufen. Man löst den Niederschlag unter schwachem Erwärmen in 3 ml absol. Methanol. Die klare Lösung wird mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, wodurch die Digitonide wieder ausfallen. Nach 24stündigem Stehen wird wie oben zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit 3 ml Aceton-Äther (1:2) und mit 3 ml absol. Äther gewaschen. Dann trocknet man ihn bei Raumtemperatur und löst ihn in genau 3,0 ml Eisessig. 2 ml davon benutzt man zur Cholesterinbestimmung nach SPERRY und WEBB. Weitere 0,2 ml werden in ein Reagensglas (15 × 1,7 cm) gegeben und mit 5,0 ml Anthron-Reagenslösung (siehe unten) versetzt. Das Reagensglas wird für genau 10 min in ein Wasserbad von 100° C gebracht und dann sofort in ein Eisbad getaucht. Die optische Dichte dieser Lösung mißt man innerhalb von 3 Std bei 625 nm in einem Bausch-Lomb-Spektrophotometer. Eine Eichkurve wird mit Digitonin-Standardlösung gegen 0,2 ml Eisessig als Blindprobe aufgestellt. Sie ist von 0—80 µg Sterin gerade und geht durch den Nullpunkt. — *Anthron-Reagenslösung.* Man löst 0,10 g Anthron in 100 ml konz. Schwefelsäure. 3 Teile dieser Lösung, die 24 Std haltbar ist, werden kurz vor Gebrauch im Eisbad mit 2 Teilen Wasser vermischt.

[1] Arch. Biochemistry **82**, 195—202 (1959). Dep. Physiol., Univ. Berkeley, Calif. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **187**, 97 (1950). MARGOT ZIMMERMANN

Zur Feststellung von Steroidhormonen in Peloiden führte A. Smoczkiewiczowa[1] eine fraktionierte Extraktion der zu untersuchenden Peloide nach dem Verfahren aus, das zur Extraktion der Steroidhormone aus Urin dient (Extraktion mit Äther aus neutraler, saurer und alkalischer Lösung). In den verschiedenen Fraktionen gelang es, durch Aufnahme der Absorptionskurven nach Umsetzung mit Kobers-Reagens und Thiocolreagens Substanzen vom Typus der Ketoverbindungen mit α-Ketolkonfiguration nachzuweisen, außerdem eine Substanz, die den Oestrogenen chemisch ähnlich ist. Die Gehalte an Oestrogen-Substanzen wurden zu 60 bis 70 μg in 100 g Peloid bestimmt.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 503—511 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Balneolog. Inst. Poznań (Polen). A. Kurtenacker

Über die Trennung und Bestimmung von Pregnan-3α, 17α, 20α-triol, Pregnan-3α, 17α, 20α-triol-11-on und andere harnfähige acetaldehydogene Steroide berichtet R. I. Cox[1]. Diese Steroide liefern, durch die Seitenkette bedingt, bei Perjodatoxydation Acetaldehyd[2]. Die Reaktion verläuft quantitativ. Verf. gibt eine Apparatur an, mit der es gelingt, bei Einhalten sehr eingehend geschilderter Bedingungen, die in Frage stehenden Steroide in einer Menge bis hinab zu 2 μg zu bestimmen. In Harnextrakten lassen sich die Steroide durch 2malige Papierchromatographie gut trennen[3], wie durch Abbildung belegt ist, und nach Behandeln mit 70%iger Phosphorsäure und 10 min langes Erhitzen auf 87—90° C gut sichtbar machen[3]. In einer Tabelle sind die Farben, die bei Tageslicht erscheinen, und die Fluorescenz im UV-Licht (3660 Å) von folgenden Steroiden zusammengestellt: *5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol*; *5β-Pregnan-3α,17α,20β-triol*; *Pregn-5-en-3β,17α,20α-triol*; *5α-Pregnan-3α,17α,20α-triol*; *5β-Pregnan-3α,17α,20α-triol-11-on*; *5β-Pregnan-3α,11β,17α,20α-tetrol*. Die Ergebnisse werden diskutiert.

[1] J. biol. Chemistry **234**, 1693—1697 (1959). Univ. Sydney (Australien). — [2] Cox, R. I.: Biochemic. J. **52**, 339 (1952); vgl. diese Z. **143**, 396 (1954). — [3] Cox, R. I., u. M. Finkelstein: J. clin. Invest. **36**, 1726 (1957). E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Oleandomycin in Galle und Harn teilen G. Gerner und W. Fischer[1] mit. Es handelt sich um ein Agarlochtestverfahren, bei dem als Testkeime Bac. Cereus var. mycoides ATCC 9634 benutzt werden. Die Glasschalen für den Agar müssen einen planparallelen Boden besitzen und beim Gießen sowie Bebrüten mit einer Wasserwaage genau horizontal eingestellt werden. Die Ansätze werden mit Sørensen-Phosphatpufferlösung von p_H 7,8 durchgeführt. Den Durchmesser der Hemmzonen kann man mit genügender Genauigkeit durch untergelegtes, bis auf 0,5 mm graduiertes Meßpapier ermitteln. Bei Einhalten der ausführlichen Vorschriften beträgt die Empfindlichkeit 0,2 μg Oleandomycin/ml.

[1] Arzneimittel-Forsch. **9**, 354—356 (1959). Med. Univ.-Klinik Erlangen. E. Müller, Würzburg

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung der Glutaminoxyessigsäure-Transaminase in Serum oder Plasma, bei der die von Tonhazy und Mitarb.[1] angegebene Arbeitsweise modifiziert wird, beschreibt D. F. Ashman[2]. Es werden Normalwerte (zwischen 5 und 40,2 E/ml) und bei Herz- und Leberkranken gemessene Werte angegeben. — *Arbeitsweise.* In zwei Reagensgläser gibt man je 0,5 ml Serum oder Plasma und 0,5 ml Wasser, schüttelt, fügt zu 1 0,5 ml 10%ige Trichloressigsäure und zu 1 und 2 0,5 ml Substrat (siehe unten) hinzu und inkubiert 10 min bei 37° C. Danach wird 2 ebenfalls mit 0,5 ml Trichlorsäure versetzt. Man gibt zu beiden Gläsern 0,5 ml Anilincitratlösung (5 g Citronensäure in 5 ml Wasser + 5 ml Anilin),

inkubiert wiederum 10 min bei 37° C, fügt 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin-Reagenslösung (siehe unten) zu, hält 5 min bei 37° C, versetzt mit 2,0 ml wassergesätt. Toluol, schüttelt kräftig und zentrifugiert noch 10 min bei 300 U/min. Aus jedem Reagensglas wird 1,0 ml entnommen, in einer Photometerküvette mit 4 ml 2,5%iger Kalilauge in 95%igem Alkohol versetzt und nach 5—10 min die Absorption bei 520 mμ mit Grünfilter (Klett-Summerson) gegen Wasser gemessen. — *Substrat.* 2,66 g D, L-Asparaginsäure, 2 g K_2HPO_4 und 0,6 g α-Acetoglutarsäure löst man in Wasser, stellt auf p_H 7,4 ein und verdünnt auf 100 ml. — *Dinitrophenylhydrazin-Reagens.* 100 mg 2,5-Dinitrophenylhydrazin löst man in 20 ml konz. Salzsäure + 80 ml Wasser.

[1] Tonhazy, N. E., N. G. White u. W. W. Umbreit: Arch. Biochemistry **28**, 36 (1950). — [2] Acta cient. venez. **10**, 14—15 (1959). Univ. Zulia, Maracaibo (Venezuela).

Ursula Baumann

Über die Bestimmung von Pseudocholinesterase nach der Methode von Vincent berichtet P. N. Meulendijk[1]. Verf. gibt eine Modifikation der Methode von D. Vincent[2] an. Das Prinzip dieses Verfahrens beruht darauf, daß das als Substrat zugesetzte und nicht vom Enzym hydrolysierte Acetylcholin als Hydroxamsäure bestimmt wird. — *Ausführung.* 1 ml auf 1 : 20 mit Veronalnatriumpufferlösung von p_H 7,4 verd. Serum inkubiert man mit 1 ml Substratpufferlösung (1 g Acetylcholinhydrochlorid in Wasser zu 100 ml lösen und mit obiger Pufferlösung auf 1 : 10 verdünnen) 30 min bei 37° C. Man stoppt die Reaktion mit 0,2 ml 1 n Salzsäure und versetzt mit 0,4 ml alkalischer Hydroxylaminlösung (siehe unten) sowie nach 1 min mit 0,2 ml 4 n Salzsäure, 0,2 ml 0,37 m Eisen(III)-chloridlösung und 5 ml Wasser. Man mißt die Extinktion bei 540 nm gegen einen Blindansatz, der statt Serum Pufferlösung enthält. — *Alkalische Hydroxylaminlösung.* Kurz vor Gebrauch mischt man gleiche Teile 14%ige wäßrige Hydroxylaminhydrochloridlösung und 14%ige Natronlauge.

[1] Pharmac. Weekbl. **94**, 623—626 (1959) [Holländisch]. St. Elisabeths Gasthuis, Arnhem (Holland). — [2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 104 (1958).

E. Müller, Würzburg

Über die spektrophotometrische und stöchiometrische Titration von Ribonuclease in 8 m Harnstofflösung berichten O. O. Blumenfeld und M. Levy[1]. Unter den Versuchsbedingungen verhalten sich alle 6 Tyrosylhydroxylgruppen der Ribonuclease gleich; wahrscheinlich kommt es zu Wasserstoffbrückenbindung mit dem Harnstoff. In wäßriger Lösung zeigen 3 der Gruppen eine geringere Neigung, als Wasserstoffionendonatoren zu fungieren. Damit werden Versuche von D. Shugar[2] sowie C. Tanford, J. D. Hauenstein und D. G. Rands[3] bestätigt.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **76**, 97—102 (1958). Colleges Med. a. Denistry, Univ. New York (USA). — [2] Biochemic. J. **52**, 142 (1952). — [3] J. Amer. chem. Soc. **77**, 6409 (1955).

E. Müller, Würzburg

Über die spektrophotometrische Titration von zwei Ribonucleasederivaten berichten C. C. Bigelow und M. Ottesen[1]. Mit Perameisensäure oxydierte und mit Pepsin teilgespaltene Ribonuclease werden bei verschiedenen p_H-Werten bei 287 bzw. 284 mμ gemessen, um das Verhalten der 6 Tyrosinreste zu studieren. In 2 graphischen Darstellungen sind die Kurven wiedergegeben. Die Ergebnisse werden unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur besprochen.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **32**, 574—575 (1959). Carlsberg Lab., Kopenhagen (Dänemark).

E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung der Ureaseaktivität in Sojaschrot gibt C. VAN REDE[1] an. Es handelt sich um eine der üblichen titrimetrischen Bestimmungen des durch Urease aus Harnstoff frei gemachten und destillierten Ammoniaks. Die Ureaseaktivität wird in Ureaseeinheiten (UE) ausgedrückt, sie ist durch die Enzymmenge definiert, die bei 20° C in 5 min 1 mg Stickstoff als Ammoniak aus einer auf p_H 6,9—7,0 gepufferten Harnstofflösung frei macht. — *Ausführung.* In einen 100 ml-Meßkolben wiegt man 2 g auf 10 mg genau im Porzellanmörser fein gepulvertes Sojaschrot ein und fügt 10 ml 20° C warme Pufferlösung (siehe unten) sowie 10 ml 20° C warme, frische 10%ige Harnstofflösung hinzu und läßt unter Umschütteln 15 min im Wasserbad von 20° C stehen. Man gibt in den Kolben 0,2 g Magnesiumoxyd, füllt mit ausgekochtem Wasser zur Marke auf, verschließt, mischt gut und gießt den Inhalt unter Nachspülen in einen mit 250 ml ausgekochtem Wasser gefüllten Kjeldahl-Kolben. Innerhalb von 5 min bringt man zum Kochen und destilliert in genau 25 min etwa 100 ml in 25 oder 50 ml 0,1 n Schwefelsäure, die mit 2 Tr. Tashiro-Indicator versetzt ist, und titriert mit 0,1 n Natronlauge zurück. Ein Blindansatz ohne Sojaschrot wird genauso behandelt. Es ist UE/g Sojaschrot = $[14(N\text{-}n)t]/G$. Darin ist N = Milliliter Lauge bei Blindansatz; n = Milliliter Lauge bei Probe; t = Titer der Lauge; G = Sojaschroteinwaage in Gramm. Bei 10—20 UE/g legt man 25 ml und bei 20—30 UE/g 50 ml 0,1 n Schwefelsäure vor. — *Pufferlösung.* Man löst 1,0 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ und 4,0 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ in Wasser und füllt auf 100 ml auf.

[1] Chem. Weekbl. **55**, 294—295 (1959) [Holländisch]. Vereenigte Oliefabrieken, Zwijndrecht (Holland). E. MÜLLER, Würzburg

Eine Modifikation für die Bestimmung von Uropepsin gibt K. E. ARENSBURGER[1] an. Er stellt fest, daß die Harneigenfarbe je nach Intensität die Werte nach der Methode von S. J. GRAY, C. G. RAMSEY und R. W. REIFENSTEIN[2] ungünstig beeinflussen kann. Um diesen Fehler auszuschalten, bestimmt Verf. den „Chromogenindex" CI und erhält nach der empirischen Formel: korrigierter Wert = Wert — [(Wert · CI)/10] Ergebnisse mit +6 bis —15% Fehler im Gegensatz zur Originalvorschrift von +2 bis +64% Fehler. — *Ausführung.* Der 24 Std-Harn wird in einem Gefäß mit 1 ml 25%iger Schwefelsäure gesammelt. 1 ml filtrierten Harn mischt man mit 9 ml 0,1 n Salzsäure und bestimmt gegen 10 ml 0,1 n Salzsäure CI bei 420 mμ. Den Wert für CI entnimmt man einer Eichkurve, in der sie gegen die Extinktion von Standardlösungen bei 420 mμ aufgetragen sind; sie sind aus der Tabelle ersichtlich. — *Standardlösung.* 10 ml einer 1%igen Kaliumdichromatlösung gibt man in einen 100 ml-Meßkolben, setzt 2 Tr. konz. Schwefelsäure hinzu und füllt mit Wasser zur Marke auf. Die Verdünnungsreihe ist aus der Tabelle ersichtlich.

Tabelle

Standardlösung ml	Wasser ml	CI
0,1	9,9	0,1
0,3	9,7	0,3
0,5	9,5	0,5
0,7	9,3	0,7
1,0	9,0	1,0
1,5	8,5	1,5
2,0	8,0	2,0
3,0	7,0	3,0
4,0	6,0	4,0
5,0	5,0	5,0
6,0	4,0	6,0
0,0	10,0	Blindwert

Uropepsin bestimmt man nach[2].

[1] Clin. Chemistry **5**, 135—141 (1959). — [2] New England J. Med. **251**, 835 (1954).
E. MÜLLER, Würzburg